Pn 1170

Nouvelle Série Tome IV, N° 3, Avril 1959

REVUE ALGOLOGIQUE

— FONDÉE EN 1922 —

Par P. ALLORGE et G. HAMEL

MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
LABORATOIRE DE CRYPTOGAMIE
12, RUE DE BUFFON — PARIS V°

Publié avec le cancours du Centre Natianal de la Recherche Scientifique

Paraissant quatre fois par an.

EDITIONS DU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

■

I. — PUBLICATIONS PÉRIODIQUES

BULLETIN SIGNALÉTIQUE

Le Centre de Documentation du C.N.R.S. publie un « Bulletin signalétique » dans lequel sont signalés par de courts extraits classés par matières tous les travaux scientifiques, techniques et philosophiques, publiés dans le monde entier.

Le Centre de Documentation du C.N.R.S. fournit également la reproduction sur microfilm ou sur papier des articles signalés dans le « Bulletin signalétique » ou des articles dont la référence bibliographique précise lui est fournie.

ABONNEMENT ANNUEL

(*y compris table générale des auteurs*).

2e Partie (biologie, physiologie, zoologie, agriculture) :

FRANCE	6.500 Fr.
ETRANGER	7.500 Fr.

Tirages à part 2e Partie.

SECTION IX. — Biochimie, biophysique, sciences pharmacologiques, toxicologie :

FRANCE	2.000 Fr.
ETRANGER	2.200 Fr.

SECTION X. — Microbiologie, virus et bactériophages, immunologie :

FRANCE	1.300 Fr.
ETRANGER	1.450 Fr.

SECTION XI. — Biologie animale, génétique, biologie végétale :

FRANCE	3.650 Fr.
ETRANGER	4.050 Fr.

SECTION XII. — Agriculture, aliments et industries alimentaires :

FRANCE	1.150 Fr.
ETRANGER	1.450 Fr.

ABONNEMENT AU CENTRE DE DOCUMENTATION DU C.N.R.S.
16, rue Pierre-Curie, PARIS-5e
C.C.P. Paris 9131-62, Tél. DANton 87-20

Pr 1170

Nouvelle Série. Tome IV, Fasc. 3. Avril 1959.

REVUE ALGOLOGIQUE

DIRECTEURS :

P. BOURRELLY et ROB. LAMI

SOMMAIRE

P. Palik. — New and interesting Diatoms remainders in the Pannonian yellow sand of Bogács 147

P. Gayral et A. Sasson. — Résultats de recherches sur la flore algale d'une mare temporaire du Maroc 152

P. G. Guerrero. — La « Ficosis » enfermedad mortal en la hidrofitia 161

H. S. Forest, H. L. Chance et M. M. Davis. — The possible application of bacterial cytological technique to the taxonomy of blue-green Algae 170

R. A. Lewin. — The Isolation of Algae 181

I. Mackenzie Lamb. — A new method for the permanent preservation of Algal material for microscopic study 198

Bibliographie 202

BIBL. DU MUSEUM D'H. ST. NATUR.

"New" and Interesting Diatom Remainders in the Pannonian "Yellow" Sand of Bogács

By P. PALIK, Budapest.

■

The Pannonian sand of Bükkalja was examined, with a view to mineralogy, by Dr Margaret HERRMANN, research worker of the Mineral Collection of the Natural Science Museum in Budapest (Pannonian Sand Examinations of Bükkalja. *Bull. of the Hung. Geol. Soc.* 84, 4, p. 338, 1954. Budapest [Földtani Közlemények. Bükkalji pannóniai homokvizsgálatok]). During her researches she found diatom remainders in the sand samples of Bogács, so she requested me to examine this sand also with a view to algology.

Zoltán SCHRÉTER research worker considers it to be Lower Pannonian « yellow » sand. The village Bogács is situated in the North of Hungary at the foot of the Bükk Mountains, some 12 kilometres to the east of Eger and likewise 12 kilometres to the north of Mezökövesd away.

I found 40 diatom species in the examined sand samples 5 of which are new for science. The new species are as follows :

CENTRICAE.

Cyclotella Cleve-Euleriana n. sp. (1).

The discus has a diameter of 74 μ, lines which are radially arranged being discernible on its margin. This streaked area is about a third of the radius of the discus. There are 7-8 lines in an area of 10 μ. On the outer edge a hem of 4 μ. In the central area some dots of irregular forms. The cell is 28 μ high from side-view. The more or less pointed thread-like formations running from one edge of the discus to the opposite one remind us of the appendages characteristic of the species *Melosira granulata* (Ehrbg.) Ralfs. It is possible that the above-mentioned threads are the prints of the hypha-threads of a fungus species affecting the diatom cell (Fig. 1, 10).

(1) I named the species in honour of the diatom researcher Astrid CLEVE EULER who came to my aid with the identification of some problematical species. Making use of the opportunity I express my thanks to her for her kind efforts.

SOURCE MNHN Fa

Cyclotella Mauchiana n. sp. (2).

The discus has an undulating surface, with a diameter of 70 μ. On its margin very short streaks radially arranged. The middle of the discus is smooth. If the cell is somewhat turned aside there are two S-shaped formations distinguishable on the discus. The cell is 22 μ high from side-view, the undulation of the discus can be well seen. The figures I drew and photographed from the same specimen in different positions of the cell (Fig. 2, 3, 11, 12, 13, 14).

PENNATAE.

Gomphonema Herrmanniana n. sp. (3).

The remainder is 21 μ long with a width of 7 μ in the middle and 2,5 μ at the lower end; club-shaped from valve-view. The upper end is rounded off peakedly, the lower end cut off in a straight line. It is devoid of a stigma. The streaks are restricted to the margin of the valve, the area is hroad. The lines are running parallel about the centre of the valve, and radially towards the apices. There are 11 lines in an area of 10 μ (Fig. 15). The remainder reminds us of the species *G. platypus* Östrup. In the latter however the head part is broadly rounded off. In *G. platypus* the streaks are tender, the lines are running parallel, 20 lines in an area of 10 μ. Its dimensions are : length 20 μ and width 2, 3-3, 5 μ (Fig. 15).

Amphora hungarica n. sp.

The remainder is 70 μ long and 18,5 μ broad in the middle, 12 μ at the apices. The dorsal side is domed in the middle, the ventral side is slightly concave, nearly straight. The apices are cut off obliquely. The cutting off is slanting from the ventral side towards the dorsal side. Two limbs of the raphe beginning from the apices are slightly bent towards the middle of the valve. The ribs are running in a more or less radial arrangement, there are some 4 ribs discernible in an area of 10 μ (Fig. 5).

Rhopalodia Frickeiana n. sp.

The remainder is more or less sickle-shaped. The ventral side is somewhat concave, nearly straight, the dorsal side is domed. Its length is 52 μ, its width 11 μ in the middle and 4 μ at the poles. The pole is, as plainly visible at the under end, more or less cut off. The ribs are running in a radial arrangement, there are some 16-18

(2) So named in honour of the Hungarian hydrobiologist Dr Ralph MAUCHA.
(3) In honour of the Hungarian mineralogist Dr Margaret HERRMANN who kindly made the research material available for me.

Source: MNHN, Paris

ribs on the remainder, with 13-15 areolae in an area of 10 μ. The keeled raphe is more or less straight, somewhat bent downwards at the ends. The remainder reminds us of one of FRICKE's figures. (Cf. SCHMIDT : Atlas der Diatomaceenkunde. Plate 256, Fig. 9). In the latter also the ribs are arranged radially, the dimensions of the cell being similar too (about 63 μ long and 12 μ broad in the middle, 4 μ at the ends). FRICKE remarks regarding his above mentioned figure : « Einstweilen nicht bestimmbar ». As its habitat he names German East Africa (Fig. 4).

I often saw very interesting globular, ellipsoid, or rather more or less lenticular bodies in the sand samples of Bogács. The size of the latter one was different (140 × 80 μ, 145 × 135 μ, 152 × 119 μ). The body is circular or elliptical as seen from above, its center sinking in like a navel. From the centre furrows are running out in radial arrangement (Fig. 6). This body is divided into quadrangular, quinquangular or hexagonal areolae from side-view. The areolae are swerwing downwards in arcuate lines. Diameter of the areolae about 3 μ (Fig. 16). These bodies remind us very much of the diatom species called *Hyalodiscus subtilis* Bail. (Fig. 9). Therefore I thougt they belong to the genus *Hyalodiscus,* but I did not identify them on any account with the species *H. subtilis,* for the areolae covering the side of the cell are very tiny, about 23-26 being discernible in an area of 10 μ according to the descriptions (Fig. 9 c). On our remainder, however, there were 3 areolae in an area of 10 μ. During my researches, when examining the remainders in hydrochloric acid solution I happened to press on the covering glass in the microscope somewhat more resolutely, and then the body which was supposed to be *Hyalodiscus* dropped into 4, more or less circular leaflets, that is to say 4 disks (Fig. 20). These disks consisted of silicious needles in radial arrangement. In the middle of each disk a more or less circular aperture was perceptible. After further soft pressing these leallets fell into silicious needles. (Picture 7, 8). Now it became evident that these remainders cannot belong to the diatoms. After repeated examinations these bodies turned out to be identical with the sterrasters rising in the gastral part of some sponge species. It is mentioned by CLEVE-EULER in the description of the genus *Hyalodiscus* (Die Diatomeen von Schweden und Finnland, 1951, p. 35) that the lenticular cells are connected by twos by means of mucilage, forming a chain in this way (Fig. 18). During the studying of the literature about sponges a figure of O. SCHMIDT got into my hands in which he demonstrates the development of the sterrasters (4).

(4) Supplement der Spongien des Adriatischen Meeres, 1864, Leipzig.

Source: MNHU B.

According to the description of the author the sterrasters come into being in the body of the respective sponges on the sarcode fascicles, and are ranged like a string of pearls on these forming regular intervals between them. Thus in the beginning the Sterrasters are connected by mucilaginous sarcode fascicles (Picture 19) similarly to what we have seen in *Hyalodiscus*. According to the descriptions the diameter of the cell in the species *H. subtilis* is 20-120 μ. Such a considerable fluctuation of size is common also with the sterrasters, for the developing sterrasters are still small (Picture 19), and then become always higger in consequence of the accumulation of more and more silicious material. Relying upon these findings it is to be wished that the genus *Hyalodiscus*, especially the species *H. subtilis* should be revised again, for is seems probable that the « cells » of the latter one are nothing but sterrasters produced in some sponge species. According to CLEVE-EULER (p. 35) no recent habitat of *H. subtilis* is known.

Relying upon the diatom species found in the sand samples I tried to draw conclusions upon the qualities of their habitat in the Lower Pannonian Age. The number of the species is 40, 5 of which being new for science, as was mentioned. 5 of the 35 species known so far are marine species, 12 species live in fresh and brackish-water, a considerable part (10 species) of which prefer today waters with highly reduced salt contents. The number of the fresch-water species is 15, 3 species live exclusively in brackish-waters. The alga species found prove therefore that the water was brackish.

A considerable part of the 35 species is found at present in the littoral zone or in shallow waters living as epiphyts, 20 species (11 + 9). 4 species live in the pelagic zone, but 3 of them can be found also in the littoral zone. From all that we can draw the conclusion that the sand examined is of littoral origin. M. HERRMANN who assorted the sand according to the size of its grains considers it to be littoral deposit (p. 385).

Many of these species live both in standing waters and rivers, 14 species however are inhabitants of standing waters exclusively. The above mentioned author considers, on the basis of her investigations, that this sand originates from standing water, this statement is supported also by the diatom remainders.

Out of the insufficient literary data I could ascertain the pabulum needs of only 10 species of the 35. Today 9 species of them inhabit mesotroph and eutroph waters.

23 of the 35 species are living now in Central Europe.

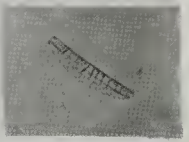
Relying upon these findings we can ascertain, or rather assume

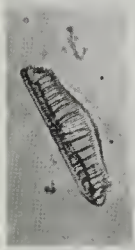
Source MNHN, Paris

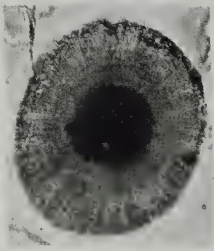
1

2

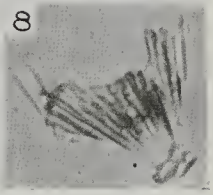
3

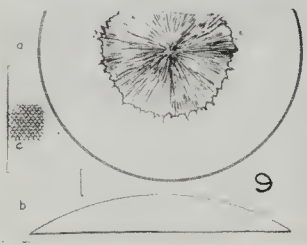

4


5


6

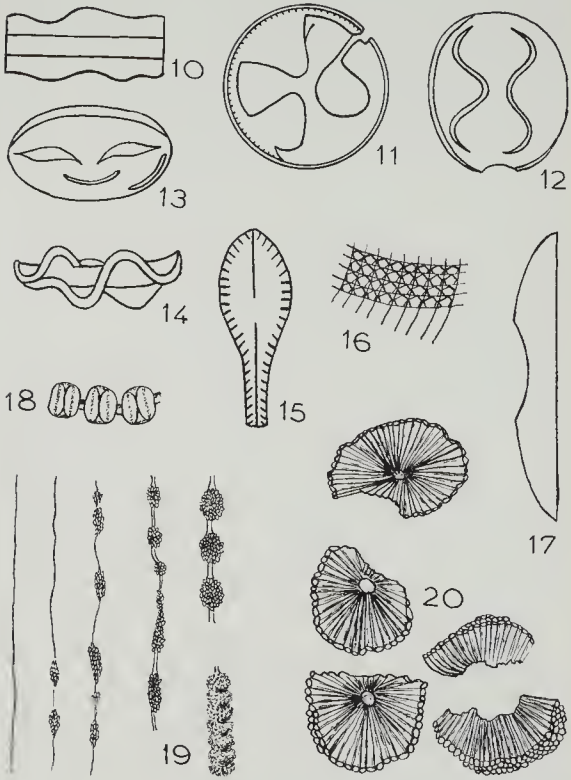
7


8



9

Source MNHN, Paris



Source MNHN, Paris

that the Lower Pannonian sand containing diatoms was deposited in littoral standing water originating from a water with highly reduced salt contents, which was relatively rich in nutritive materials.

ANNOTATIONS TO THE PLATES. 5 AND 6.

Picture 1.	*Cyclotella Cleve-Euleriana* n. sp. Discus.	500 : 1
» 2.	*Cyclotella Mauchaiana* n. sp. Discus.	230 : 1
» 3.	*Cyclotella Mauchaiana* n. sp. Discus.	230 : 1
» 4.	*Rhopalodia Frickeiana* n. sp.	420 : 1
» 5.	*Amphora hungarica* n. sp.	470 : 1
» 6.	Surface picture of sterraster.	340 : 1
» 7.	Half of a disk.	420 : 1
» 8.	The disk has fallen into silicious needles.	420 : 1
» 9.	*Hyalodiscus subtilis* Bail. a) as seen from above. b) side view. c) areolae on the side of the cell. 500 : 1. (After fig. 35 of Cleve-Euler.)	
» 10.	*Cyclotella Cleve-Euleriana* n. sp. The cell from side view.	500 : 1
» 11.	*Cyclotella Mauchaiana* n. sp. Discus.	500 : 1
» 12.	*Cyclotella Mauchaiana* n. sp. Discus.	500 : 1
» 13.	The same.	500 : 1
» 14.	The same. The cell from side view.	500 : 1
» 15.	*Gomphonema Herrmanniana* n. sp.	2000 : 1
» 16.	The areolae on the side of the sterraster are running in arcuate lines.	1000 : 1
» 17.	Half of a sterraster from side view.	400 : 1
» 18.	Cells of *Hyalodiscus* connected by twos by means of mucilage have formed a chain. (After fig. 36 of Cleve-Euler.)	280 : 1
» 19.	Development of sterrasters. After plate I, fig. 12 of O. Schmidt.	
» 20.	The sterraster has fallen into four disks.	400 : 1

Source MNHN Paris

Résultats de recherches sur la flore algale d'une mare temporaire du Maroc

Par Paulette GAYRAL et Albert SASSON.

■

Les mares temporaires sont abondantes dans tout le Maroc septentrional où elles sont désignées sous le nom vernaculaire de « dayas ». Alimentées par les pluies hivernales, elles atteignent en général leur extension maximum au printemps, et, progressivement, subissent une régression qui les conduit à un asséchement complet en fin d'été et pendant l'automne.

Nous nous sommes consacrés, de l'hiver 1956 à l'été 1957, à l'étude de l'une d'entre elles, la daya Hamida, située sur le plateau qui s'étend au Nord-Est de Rabat, à 14 km. de cette ville.

De superficie assez considérable pour ce genre de formation (environ 2-3 ha), cette daya, par sa situation et son origine, peut servir de type pour l'ensemble des mares temporaires de la région qui reposent sur un substratum analogue.

Des observations fréquentes, environ toutes les deux semaines, ont été effectuées sur le terrain pour suivre les fluctuations de mise en eau et d'asséchement, pour des prélèvements de sol aux fins de mesures physico-chimiques ou d'observations biologiques, enfin pour des récoltes de plancton ou d'algues benthiques.

Les résultats de cette étude seront probablement publiés *in extenso* ultérieurement; nous nous proposons de donner dès à présent, un résumé des recherches, en insistant sur les résultats obtenus dans le domaine floristique, et les conclusions qui se dégagent de cette étude.

CARACTERES MORPHOLOGIQUES ET PHYSICO-CHIMIQUES DE LA DAYA HAMIDA.

La pièce d'eau est installée dans une légère dépression formée dans les argiles quaternaires acheuléennes. Le substratum est constitué, pour la majeure partie, par une argile brun-jaunâtre et, pour une bande plus réduite située à l'Est, par un sol sableux plus franchement rouge dans lequel un horizon sidérolithique présent dans l'ensemble de la formation, se trouve là, à une faible profondeur (15 cm. environ), et finit même par affleurer en certains points.

Source MNHN Paris

Le pH et les teneurs en sels de ces deux parties sont réunis dans le tableau suivant :

	Sol sableux humide	Sol argileux humide
pH	7,1	6,6
Bicarbonates	183 mg ‰	244 mg ‰
Chlorures	71 mg ‰	106 mg ‰
Sulfates	32 mg ‰	64 mg ‰
Calcium	20 mg ‰	40 mg ‰
Magnésium	0 mg ‰	36 mg ‰
Potassium	10 mg ‰	40 mg ‰
Sodium	40 mg ‰	60 mg ‰
K_2O	50 mg ‰	160 mg ‰
P_2O_5	5 mg ‰	10 mg ‰

Ces résultats mettent en évidence des différences assez sensibles entre les deux sols; tout d'abord en ce qui concerne le pH, les valeurs ci-dessus qui correspondent à des moyennes de mesures renouvelées, montrent que le sol argileux est légèrement plus acide que le sol sableux; d'autre part, ce dernier est nettement moins riche en éléments nutritifs que le sol argileux.

Nous verrons que la répartition des algues présente des rapports avec cette différence de composition.

La température de l'eau à oscillé pendant la période d'observation, entre un minimum de 10° et un maximum de 23°5.

Enfin il y a lieu d'insister sur le régime assez particulier de la daya, pour l'année 1956-1957. En effet, en plus d'une sécheresse exceptionnelle marquée par un défaut d'une centaine de millimètres d'eau par rapport à l'année moyenne, les pluies ont été irrégulièrement réparties dans le temps : abondantes au début de l'hiver et au début du printemps, elles ont été à peu près nulles pendant le mois de février. Il en est résulté, après la mise en eau de la mare, un assèchement considérable de celle-ci fin mars, puis une nouvelle mise en eau, mais cette fois éphémère puisque dès le mois de mai, la daya était asséchée définitivement pour l'année 1957.

RESULTATS CONCERNANT LA VEGETATION.

Des prises de sol effectuées à différents niveaux dans les deux parties du substratum ont été ensemencées dans les milieux liquides ou solides classiques (L + C, L — C, Chu, Detmer); ces milieux étant employés avec succès pour la culture, en laboratoire, d'algues d'eau douce appartenant à des groupes très variés, nous ont paru susceptibles, à quelques exceptions près, de faire développer la

Source : MNHN, Paris

totalité de la flore algale potentiellement contenue dans ces échantillons.

De fait, l'ensemble de la flore développée dans ces différents milieux, s'est montré riche, avec environ 70 espèces de variétés dont un grand nombre, nouvelles pour le Maroc (1).

Sur milieux solides, en boîtes de Pétri ensemencées en grand nombre, il a été possible de suivre, à différentes époques, l'apparition ou la disparition de groupes entiers, ou de certaines espèces, et de comparer les pulsations du développement au laboratoire et dans l'eau de la mare.

Les deux tableaux ci-dessous rendent compte des espèces rencontrées dans chacun des types de sol, de 0 à —20 cm. pour le sol argileux, de 0 à —5 cm. pour le sol sableux dans lequel la rencontre du niveau sidérolithique, dense et solide, vers —10 cm., nous a fait juger inopportunes les prises plus profondes.

Il nous a paru inutile d'y mentionner les espèces de Bacillariophycées qui, abondantes, se sont montrées présentes également dans les deux types de sol, et à toutes les profondeurs.

RÉPARTITION DES ALGUES DANS LE SOL SABLEUX.

Espèces rencontrées	surf.	s/surf.	- 5 cm.	Milieu de culture
CYANOPHYCÉES				
**Hapalosiphon Welwitschii*	O.	O.	O.	CHU
**Cylindrospermum alatosporum*	Pr.	O.	O.	CHU
**Anabaena constricta*	O.	O.	O.	CHU et L+C
**Nostoc punctiforme*	Pr.	O.	O.	CHU
Lyngbya aerugineo-coerulea	O.	O.	O.	L+C
Phormidium foveolarum	Pr.	Pr.	Pr.	CHU
Oscillatoria amoena	O.	O.	O.	L+C
Oscillatoria formosa	Pr.	O.	O.	L+C
XANTHOPHYCÉES				
**Chloridella neglecta*	Ab.	Ab.	Ab.	L—C
**Gloeobotrys chlorinus*	Ab.	Ab.	Ab.	L+C (solide)
**Characiopsis ovalis*	Ab.	Ab.	Pr.	
**Characiopsis subulata*	Ab.	Ab.	Pr.	L+C
Tribonema minus	O.	O.	O.	L+C
Tribonema vulgare	T. Ab.	T. Ab.	Ab.	L+C et L—C
**Vaucheria prolifera*	Pr.	Pr.	O.	L+C et L—C
**Vaucheria pseudogeminata*	Pr.	Pr.	O.	L+C et L—C

(1) Les espèces ou variétés nouvelles pour le Maroc citées dans ce texte sont marquées d'un astérisque; leur liste complète sera ultérieurement publiée dans les compléments au catalogue actuel des algues d'eau douce du Maroc.

Source : MNHN, Paris

CHLOROPHYCÉES				
Carteria multifilis	Ab.	Pr.	O.	L—C
Chlamydomonas Franki	Ab.	Pr.	O.	L—C
Chlorococcum humicolum	Ab.	Ab.	Ab.	L+C
Chlorella vulgaris	Ab.	Ab.	Ab.	L+C
Scenedesmus longus	Ab.	Ab.	O.	L+C et L—C
Scenedesmus obliquus	Ab.	O.	O.	L+C
Hormidium flaccidum	Ab.	Ab.	Ab.	L+C et L—C
Stigeoclonium nanum	O.	O.	O.	L+C
Stigeoclonium polymorphum	O.	O.	O.	L+C
Coleochaele orbicularis	Ab.	Ab.	Ab.	L—C
Protococcus viridis	Ab.	Ab.	Pr.	L+C (solide)
Closterium acerosum	Ab.	O.	O.	CHU (solide)
Closterium tumidulum	Ab.	O.	O.	CHU (solide)
Cosmarium sp.	O.	O.	O.	CHU (solide)
Zygnema lamellatum	Ab.	O.	O.	L—C
Zygnemopsis pseudodecussata	Ab.	O.	O.	L—C
Spirogyra stictita	Ab.	Ab.	Ab.	L+C et L—C
Protosiphon botryoïdes	Ab.	Pr.	O.	L+C (solide)

RÉPARTITION DES ALGUES DANS LE SOL ARGILEUX.

Espèces rencontrées	surf.	s/surf.	-5 cm.	-10 cm.	-20 cm.	Milieu de culture
CYANOPHYCÉES						
Hapalosiphon Welwilschii.	Ab.	Ab.	Ab.	O.	O.	CHU
Cylindrospermum alatosporum	Pr.	Pr.	Pr.	O.	O.	CHU
Anabaena constricta	Ab.	Ab.	Pr.	Pr.	O.	CHU et L+C
Nostoc punctiforme	Pr.	Pr.	O.	O.	O.	CHU
Lyngbya aeruginea-coerulea	Ab.	Ab.	O.	O.	O.	L+C
Phormidium foveolarum	Ab.	Ab.	T. Ab.	Pr.	Pr.	CHU
Oscillatoria amoena	Ab.	Ab.	O.	O.	O.	L+C
Oscillatoria formosa	Ab.	Pr.	O.	O.	O.	L+C
XANTHOPHYCÉES						
Chloridella neglecta	O.	O.	O.	O.	O.	L—C
Gloeobotrys chlorinus	T. Ab.	T. Ab.	Ab.	Ab.	Ab.	L+C (solide)
Characiopsis ovalis	Ab.	Ab.	Pr.	O.	O.	
Characiopsis subulata	Ab.	Ab.	Ab.	O.	O.	L+C
Ophiocylium gracillimum.	Pr.	O.	O.	O.	O.	
Tribonema minus	T. Ab.	T. Ab.	Ab.	Ab.	O.	L+C
Tribonema vulgare	Ab.	Ab.	Ab.	Ab.	O.	L+C et L—C
Vaucheria prolifera	T. Ab.	T. Ab.	O.	O.	O.	L+C et L—C
Vaucheria pseudogeminata.	T. Ab.	T. Ab.	O.	O.	O.	L+C et L—C
CHLOROPHYCÉES						
Volvocales	O.	O.	O.	O.	O.	L—C
Chlorococcum humicolum.	T. Ab.	T. Ab.	T. Ab.	T. Ab.	Pr.	L+C

Source : MNHN, Paris

**Chlorella ellipsoïdea*	Ab.	O.	O.	O.	O.	L+C
Chlorella vulgaris	T. Ab.	T. Ab.	T. Ab.	T. Ab.	Pr.	L+C
Ankistrodesmus falcatus ..	Ab.	Pr.	O.	O.	O.	L+C
Ankistrodesmus spiralis...	Ab.	O.	O.	O.	O.	L+C et L—C
**Kirchneriella obesa*	Ab.	O.	O.	O.	O.	L+C
**Scenedesmus longus*	Ab.	Ab.	O.	O.	O.	L+C et L—C
**Scenedesmus obliquus*.....	T. Ab.	O.	O.	O.	O.	L+C
Hormidium flaccidum	T. Ab.	Ab.	Ab.	Pr.	O.	L+C et L—C
**Stigeoclonium nanum*	Ab.	Ab.	Ab.	Ab.	O.	L+C
**Stigeoclonium polymorphum*	Ab.	Ab.	Ab.	Ab.	O.	L+C
Coleochaete orbicularis ...	O.	O.	O.	O.	O.	L—C
Protococcus viridis	T. Ab.	T. Ab.	Ab.	Ab.	Ab.	L+C (solide)
Closterium acerosum	O.	O.	O.	O.	O.	CHU (solide)
Closterium lunidulum	O.	O.	O.	O.	O.	CHU (solide)
**Cosmarium angulosum*	Pr.	O.	O.	O.	O.	CHU (solide)
Cosmarium biretum	Ab.	O.	O.	O.	O.	CHU (solide)
**Cosmarium galeritum*	Ab.	O.	O.	O.	O.	CHU (solide)
Cosmarium notabile	Ab.	O.	O.	O.	O.	CHU (solide)
**Zygnema lamellatum*	Pr.	O.	O.	O.	O.	L—C
**Zygnemopsis pseudodecussata*	Pr.	O.	O.	O.	O.	L—C
Spirogyra stictila	Ab.	Ab.	Ab.	Ab	O.	L+C et L—C
Protosiphon botryoïdes ..	T. Ab.	T. Ab.	O.			L+C (solide)

Ab. = abondant
T. Ab. = très abondant
Pr. = présent, sans plus
O. = absent

L'examen de ces tableaux appelle quelques commentaires :

1° — Les deux types de sol ne fournissent pas des flores fondamentalement différentes. On peut noter cependant que les Cyanophycées sont abondantes et mieux représentées dans le sol argileux que dans le sol sableux; seul *Phormidium foveolarum* Gom. est en effet présent dans le sol sableux. Parmi les Xanthophycées, *Chloridella neglecta* Pascher est localisé au sol sableux, les autres sont dans l'ensemble mieux représentés dans le sol argileux qui est plus riche en matière nutritives.

En ce qui concerne les Chlorophycées, les Volvocales sont absentes du sol argileux; il s'agit d'algues préférant des teneurs faibles en Ca., ce qui peut expliquer cette répartition. Les Chlorococcales sont beaucoup plus abondantes dans le sol argileux; ces algues se développent mieux en culture dans les milieux riches (L+C); leur répartition peut être mise en rapport avec la teneur plus élevée du sol argileux en éléments nutritifs. Parmi les autres Chlorophycées, la répartition différente des genres *Closterium* et *Cosmarium* est intéressante à mettre en parallèle avec le pH :

Source : MNHN, Paris

Closterium tumidulum Gay. et *Closterium acerosum* (Schrank) Ehrenberg sont des espèces réputées basophiles, les 4 espèces de *Cosmarium* présentes dans le sol de cette mare, sont au contraire éliminées par un pH légèrement supérieur à la neutralité.

Différence de pH, et différences chimiques du sol peuvent donc avoir un certain retentissement sur la répartition des espèces d'une même formation aquatique, surtout si l'on considère la flore totale, dont une fraction importante doit être fixée sur la couche superficielle du substratum de la mare.

2° — Parmi les espèces présentes en surface, la plupart disparaissent en profondeur. Toutefois, il ne faut pas, à notre avis, attribuer à cette remarque plus d'importance qu'elle mérite d'en avoir. Le fait, pour un sol prélevé en profondeur, de développer tel ou tel organisme, prouve seulement que les formes de résistance de cet organisme (kystes, zygotes, etc...), ont pu être mécaniquement entraînées jusqu'à cette profondeur; cela ne signifie nullement qu'elles puissent effectivement s'y développer. Seuls sont intéressants à considérer, les organismes qui se trouvent en profondeur, et dont les formes de repos sont cependant inconnues c'est par exemple le cas de l'espèce *Gloeobotrys chlorinus* Pascher dont les spores sont inconnues, et qui, présente jusqu'à —20 cm., doit effectivement se trouver, sous forme de cellules actives jusqu'à cette profondeur; c'est aussi, pour la même raison, le cas des Bacillariophycées.

3° — Le sol sec de cette formation laisse développer en culture, des espèces dont la présence est évidemment possible en raison de l'établissement d'un plan d'eau pendant une partie de l'année. Les Scenedesmus, les Desmidiacées, les Zygnémacées nécessitent certainement une mise en eau appréciable pour former les organes de propagation et de résistance reconnus dans le sol sec.

Il nous paraît d'ailleurs intéressant de donner maintenant les résultats aussi complets que possible, des récoltes faites dans le plan d'eau lui-même, soit par pêche au filet fin, soit parfois par centrifugation d'un petit volume d'eau, pour établir une comparaison de la flore décelée en pleine eau, avec celle que fournit l'étude du sol.

CYCLE DE LA FLORE DANS L'EAU DE LA DAYA DURANT L'ANNÉE 1956-57.

Période allant de fin novembre 1956 a fin janvier 1957.

Le phytoplancton comprend : **Phacus caudatus* Hüb. *var. ovalis* Drez., **Phacus aenigmaticus* Drez., *Chlorella vulgaris* Beyer., *An-*

Source MNHN Paris

kistrodesmus falcatus (Corda) Ralfs., *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs. var. *mirabilis* W. et G. S. West, *Ankistrodesmus spiralis* (Turner) Lemm., **Scenedesmus longus* Meyen *var. minutus* G. M. Smith, *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kütz., *Actinastrum Hantzschii* Lag., *Kirchneriella lunaris* (Kirchn.) Moebius.

PÉRIODE ALLANT DE FIN JANVIER 1957 AU DÉBUT DE MARS 1957.

On note une relative abondance des *Ankistrodesmus; Phacus aenigmaticus* Drez. est présent ainsi que *Phacus triqueter* (Ehr.) Dujardin.

L'eau se couvre de Chlorophycées filamenteuses : *Zygnema lamellatum* (Rao.) Kolk. et Krieger, *Zygnemopsis pseudodecussata* (Czurda) Kolk. et Krieger sur la rive Ouest; *Spirogyra crassa* Kütz., *Spirogyra nitida* (Dillw.) Link. sur la rive Est (déterminables ultérieurement seulement).

PÉRIODE ALLANT DE MARS 1957 AU MILIEU DE MAI 1957.

Le plancton ne comprend que quelques *Phacus aenigmaticus* Drez., et *Actinastrum Hantzschii* Lag.. Ultérieurement la mare est asséchée.

Ce plancton n'est pas très riche qualitativement. Quantitativement, mises à part quelques Chlorococcales et quelques Euglénacées, il s'avère très pauvre. Cette constatation que nous avons eu déjà l'occasion de faire à la suite d'observations dans d'autres pièces d'eau de même type, trouve son explication dans la forte turbidité de l'eau de ces mares qui, situées sur un fond argileux abondamment piétiné par le passage des troupeaux, consistent en une eau riche en matières colloïdales peu propice au développement du phytoplancton.

Naturellement les Zygnémacées se développent abondamment, et retiennent entre leurs filaments certaines espèces benthiques comme les Desmidiacées que l'on peut observer dans l'eau d'expression des premières; cependant une partie, quantitativement importante des espèces benthiques, doit vivre sur la surface même du substratum, et nous paraît pouvoir passer inaperçue lors des récoltes effectuées seulement dans l'eau.

SUCCESSION DES FLORES

Les prélèvements de sol effectués à différentes époques et examinés environ trois semaines après l'ensemencement, ont montré pour les principaux groupes systématiques, la succession suivante :

Les Cyanophycées présentent un maximum de développement lors de la deuxième période printanière, et pendant l'été; alors que

Source MNHN, Paris

le sol d'hiver n'a révélé que les deux espèces *Oscillatoria amoena* Gom. et *Hapalosiphon Welwitschii* W. et G. S. West, le sol de printemps montre le développement de *Phormidium foveolarum* Gom., *Nostoc punctiforme* (Kütz.) Hariot, **Cylindrospermum alatosporum* F. E. Fritsch. En juin, trois autres espèces sont apparues: **Anabuena constricta* (Szafer) Geitler, *Oscillatoria formosa* Bory, *Lyngbya aerugineo-coerulea* Gom..

Les Xanthophycées, relativement abondantes en espèces et en individus, présentent leur maximum de développement au début du printemps.

Les Bacillariophycées, très abondantes dans le sol, présentent un maximum hivernal avec *Achnantes*, *Hantzschia amphioxys* (Ehr.) Grun., *Amphora veneta* Kütz., et un deuxième au début de l'été. Aux espèces précédentes s'ajoutent alors *Nitzschia palea* (Kütz.) W. Smith, *Fragilaria construens* Ehr. var. *triundulata* Reichelt, *Gomphonema augustatum* (Kütz.) Rab., *Stauroneis truncata* J. W. G. Lund, *Cymbella microcephala* Grunow, *Pinnularia microstauron* (Ehr.) Cleve.

En ce qui concerne les Chlorophycées dans l'eau, les Volvocales, très éphémères n'ont été rencontrées qu'après les pluies. Les Chlorococcales et la plupart des autres Chlorophycées sont bien développées au printemps, en particulier les Zygnémacées qui constituent, à cette époque, une masse de matière végétale considérable dans la pièce d'eau.

Parallèlement à ces observations, des sols en culture au laboratoire depuis le début de la période d'étude de la daya, ont montré qu'à une époque donnée, il apparaissait seulement un nombre limité d'espèces. Observé ultérieurement, le même sol révélait l'apparition de nouvelles espèces, marquant ainsi une succession semblable dans l'ensemble des groupes à celle observée dans la nature. Puisque les conditions de développement étaient, au laboratoire, sensiblement constantes depuis le début, on peut voir dans ces faits l'inéluctable nécessité d'une maturation des formes de repos, une sorte de « dormance » indispensable à ces organes.

CONCLUSIONS

1. — Le sol des dayas, d'après ce que nous a montré la daya Hamida, et il n'y a aucune raison pour qu'il en soit autrement dans le plus grand nombre d'entre elles, est pourvu d'un riche potentiel algologique et, étudié sur un nombre suffisant d'échantillons en culture, est susceptible de livrer successivement les espèces qu'il renferme, à condition de le placer dans divers milieux nutritifs

Source: MNHN, Paris

reconnus favorables à la culture de la plupart des grands groupes d'algues.

2. — Cette richesse contraste avec la pauvreté de l'eau en phytoplancton, pauvreté explicable la plupart du temps par l'abondance de colloïdes en suspension.

3. — Lorsque la mare est en eau, à la pauvreté en organismes planctoniques s'oppose très vraisemblablement une certaine luxuriance d'organismes vivant sur la partie superficielle du substratum; la plupart passent alors inaperçus si l'on ne conduit parallèlement l'étude du sol et celle de l'eau.

4. — Cependant l'étude du sol de la formation sèche n'exclut pas la recherche des organismes prélevés dans le plan d'eau lui-même; cette étude peut en effet ne pas livrer des organismes nécessitant des conditions particulières de culture, ou des organismes présents dans l'eau d'une manière occasionnelle, transportés par exemple par des oiseaux aquatiques ou même par les troupeaux qui parcourent des mares voisines.

Faites sur un ensemble de formations de ce genre, de telles observations renouvelées permettraient, à notre avis, de faire la part des espèces constantes, maintenues dans le sol sec sous forme de cellules actives ou sous des formes de repos et la part des espèces sporadiques apportées annuellement ou tout à fait occasionnellement par des agents extérieurs.

MNHN Paris

La " Ficasis " enfermedad mortal en la hidrofitia

por Pedro Gonzalez GUERRERO.

■

Résumé. — Ce travail étudie une maladie nouvelle des plantes aquatiques de la République Argentine, Portugal, France, Italie, Suisse, Belgique et Espagne, maladie qui est appelée « phycose » car elle est causée par des Algues. Ce nouveau terme est introduit pour la première fois dans le langage scientifique. C'est aussi la première fois qu'on utilise le mot « phycelium » pour désigner un pseudo-tissu formé par l'enchevêtrement de nombreuses algues constituant sur le support végétal une pellicule ou une masse algale parfois macroscopique.

La phycose est une maladie mortelle produite par des végétaux chlorophylliens sur d'autres végétaux verts, cryptogames ou phanérogames.

Les épibiontes n'utilisent pas les tissus du substrat pour leur nutrition, mais s'en servent uniquement comme support. La suppression de la lumière (asphyxie photique) provoque la mort de l'hôte par arrêt de la photosynthèse.

La mente humana aplicó su esfuerzo a través de la Historia al estudio de las enfermedades producidas por los vegetales heterotrofos y nunca pensó que los cromofílicos, produjesen enfermedades mortales sobre las Cormofitas sometidas a su jurisdicción.

Al estudiar los materiales ficológicos que cogí en America (Republica Argentina) y en Europa (Portugal, Francia, Italia, Suiza, Belgica y España) observo con frecuencia que las Algas causan enfermedades, a veces mortales, a las plantas acuaticas sobre las que se apoyan.

Sin que pretenda agotar el número de casos posibles entre la victima y su epifito (jinete) considero dos habitats : errante el uno, y fijo el otro, pudiendo existir ambos tanto en las especies que constan de una celula cuanto en las que son filamentosas o laminares.

En el primero, indicaré las « *lapas de agua* » (« Wasserblüten », « fleurs d'eau » « fiore dell acqua »), el « *polvillo hidroficieo* », las « *lamas hidroficicas* » y la « *estopa ficológica* » (fieltro laxo acuatico). En el segundo, citaré al « *pulgón de la Cladophora* » (*Cocconeis*), a los Generos *Endoderma, Dermocarpa, Gongrosira, Gloeotrichia,* y al *Gomphonemion.*

Source MNHN Pa

HABITAT ERRANTE

Las toxinas producidas como consecuencia del quimismo vital por las Algas errantes influyen poco en la cadaverizacion de las plantas que están sometidas a su vecindad, no dañando a los tejidos de las Espermafitas sumergidas, produciendo a lo sumo un enrarecimiento del ambiente que no altera el estado fisiologico del vegetal superior.

En este habitat errante (aunque se apoyen transitoriamente sobre el soporte) se encuentran muchas especies unicelulares (*Chroococcus, Scenedesmus, Coelastrum, Volvox, Pandorina, Navicula,* etc...), originando peliculas acuaticas superficiales que al rizarse el agua por el viento, produce efecto agradable la contemplación de tal fenomeno fisico-biológico, adquiriendo coloraciones variables : azulada, si abunda *Microcystis aeruginosa* (rio Manzanares : Madrid) ; verde [rio Primero, embalse de San Roque, en Cordoba (Republica Argentina)], rio Tajo en Toledo (España), como ejemplos de Cloroficeas; amarilla, en el « curral de la veceira » en la sierra de Gerês (Portugal), abrevaderos de Esparragosa del Caudillo (Badajoz), región salinera de San Fernando, Sanlucar de Barrameda (Cadiz), etc... en España, y cuyas coloraciones son debidas al pigmento cromofilico que contienen sus células.

En realidad, verdaderas « *lapas de agua* », es decir hipotéticas láminas o peliculas flotantes superficiales es muy dificil que se produzcan, porque suben y bajan los individuos que constituyen asociación tan numerosa.

Su influencia sobre las Macrofitas no es perniciosa, debido a que la duración de la lapa de agua es fugaz, quedando el liquido bastante diáfano una vez que desaparece tal asociación, aunque permanezcan disueltos los materiales producidos durante su existencia.

El « *polvillo hidroficico* » está integrado por billones de celulas que nadan entre el fondo del charco y la superficie del agua, produciendo tal opalinidad en el medio acuatico que en ocasiones originan una pulpa ficologica densa, que constituye un gran inconveniente para las otras plantas acuaticas que allí estén, por ejemplo el *Scenedesmetum* de algunos charcos (rio Manzanares : Madrid, en Noviembre de 1924) posedor de tal cantidad de individuos, que eliminaron a las plantas superiores que allí habia, e hicieron la vida imposible a los animales acuaticos que se alojaron en aquellos estanques. El polvillo ficologico es más duradero que las lapas de agua.

Source MNHN Paris

El *Closterion* (*Closterium Pritchardianum* Arch.), encontrado en los fontines del Jardin Botanico de Madrid en Junio de 1926, se apoderó de la masa acuatica eliminando a las otras especies vegetales, lo cual realizó no solamente por sus numerosos individuos sino tambien por la gran secreción gelatinosa que produjo.

La enfermedad más perjudicial para las plantas fanerogamas acuaticas en su estado infantil, es la producida por las « *lamas ficologicas* », que al formar en el fondo del charco una pelicula constante (verdín o azulín) de espesor variahle, arropan a las plantas convecinas produciendolas con ello la muerte (*Merismopedium convolutum* Bréb., en los arroyuelos de Cabeza del Buey Badajoz. XII-1923).

Estas lamas son principalmente de color azul o amarillo, es decir, están formadas por Cianoficeas (*Chroococcus*, *Merismopedium*, etc., con algunas Diatomcas, pero escasean las de color verde; *Scenedesmus*, *Ankistrodesmus*, *Oocystis*, etc., debido entre otras causas a que las Cloroficeas son más autotrofas que las Cianoficeas y Diatomcas, prefiriendo estas ultimas en muchas ocasiones los lugares cargados de materia orgánica en descomposición (alcantarillas, letrinas, urinarios, etc...), lugares inhospitalarios para las Algas verdes en general.

Los sitios próximos a las alcantarillas, estercoleros, majadales, etc., son apetecidos por las urofilas (Clanoficeas, Diatomeas, etc...), habiendo encontrado casos frecuentes de *Phormidion*, *Oscillalorielum*, etc., [Rios : Turia (Valencia), Eresma (Segovia), Henares (Guadalajara), charcos de las majadas de La Serena (Cabeza del Buey, Castuera, Campanario, Villanueva de la Serena, Esparragosa del Caudillo, Puebla de Alcocer, Talarrubias, Siruela, Peñalsordo, etc. (España); curral de la veceira : Entre Minho y Douro (Portugal), etc.] El fondo de estos charcos tienen materiales en putrefacción y los gases fétidos que se desprenden no son tolerados por las Cloroficeas por lo cual se alejan de tales lugares y en cambio, son apetecidos por las Cianoficeas que al desenvolverse merman la lozanía de las Fanerogamas.

El *Oscillalorielo* y el *Phormidion*, son independientes en cierta manera dol nivel acuatico, ya que lo mismo se desenvuelven sobre el fondo que formando lapas de agua en las salinas de Cadiz, San Fernando, Sanlucar de Barrameda Ayamonte, Isla Cristina, San Pedro de Pinatar, Santa Pola (España).

La « *estopa ficológica* » (pleon) se desarrolla en un habitat mixto : fijo o errante. En el primer caso puede originarse sobre un sustrato inmovil o estar adherido a un medio movible, siendo en muchas ocasiones su adherencia indiferente; asi *Homoeothrix ca-*

Source: MNHN, Paris

espitosa (Rab.) Kirchn., var. *argentinensis* Gonz. Guerr., unas veces se fija sobre vegetales superiores y a los cuales produce la muerte por su abundancia, o se asienta sobre rocas, y en ocasiones sus propios padres le sirven de asiento.

Spirogyra, Oedogonium, Cladophora, etc., son los ejemplos clásicos de estas asociaciones, siendo eliminados los dos Géneros primeros por la abundancia de la última.

Desprendidos los individuos adultos del soporte o rotos en sus uniones con este, flotan en el agua, bien sea en la superficie o en el espesor de la misma y forman muchas veces un fieltro tan denso (mantas de ovas) que hacen la vida imposible á las Fanerogamas (grandes estanques de Madrid, desembocadura del arroyo « Dos Hermanas » en el rio Zujar (España), o el enorme *Cladophorion*, de centenares de metros cuadrados, en las salinas murcianas, alicantinas, gaditanas u onubenses; sucediendo lo propio con el *Enteromorphion* de los lugares indicados.

HABITAT FIJO CONSTANTE

En este medio, los epifitos viven supeditados al hospedante, a diferencia de las especies errantes que estan sometidas al medio acuatico principalmente.

Existen infinitas formas unicelulares o filamentosas que se presentan con frecuencia formando una gran población y que influyen sobre la planta hospedadora. Uno de estos casos que sorprende por su abundancia y frecuencia es el producido por el « pulgón de la *Cladophora* » (*Cocconeis placentula* por ejemplo).

El *Cocconeion* es una enfermedad endemica en *Cladophora* (*glomerata, fracta*) al cual hay que atribuirle un tanto por ciento muy elevado de culpa en la desaparición de este Genero.

La membrana celulosica de *Cladophora* es un grand medio de fijación para las epifitas, pudiendo considerarsela como planta « *nodriza-despensa* » por excelencia, para el asiento de los epibiontes universales, siendo *Cocconeis* su inquilino principal, el cual se encarga de que *Cladophora* vaya en regression, por todos los sitios en los cuales la encontré : rio Primero (Cordoba : Republica Argentina), aguas siliceas de La Serena (Badajoz : España), Urdós (Pirineos franceses), lagos Mayore, Garda (Italia), etc.

Cocconeis invade a *Cladophora* por los sitios alejados de la celula distal, y avanza paulatinamente hacia el extremo del talo de *Cladophora*, pero manteniendose siempre a cierta distancia de la celula final.

En algunas celulas de *Cladophora* hay tal cantidad de *Cocconeis* y se han hundido tanto en la membrana hospedadora, que

Source MNHN, Paris

llegan a ponerse en contacto con su agonizante citoplasma, condición que indica el probable cambio de alimentación en *Cocconeis*, haciéndose parásito.

Hay paralelismo entre la vitalidad del citoplasma de *Cladophora* y el de *Cocconeis*. En muchos ejemplares de la primera, las celulas basales del filamento están muertas, carecen de citoplasma y se hallan materialmente comidas por *Cocconeis* que a duras penas permiten la observación de su soporte.

A medida que avanzamos hacia la parte media de *Cladophora*, el protoplasma está más vivo, sucediendole igual a *Cocconeis*, y hacia el extremo del soporte, que es la parte más viva de este, los ejemplares de *Cocconeis* tienen mayor lozania que en el resto del vegetal hospedador.

Esta Diatomea se fija por la valva que tiene rafe, o por la que carece de esta hendidura, aunque dominan los que se apoyan por la valva rafidea sobre el sustrato.

El soporte influye en la colocación de la valva de la Diatomea, pues si es cilindrico y con seccion curva transversal muy cerrada, entonces *Cocconeis* se pone con su eje mayor paralelo al eje del cilindro, y su valva toma la forma de teja romana, mucho más larga que ancha y concèntrica con el hospedante. Si la matriz es de sección transversal muy abierta, o se trata de un soporte plano, entonces *Cocconeis* tiene su cara de unión poco curva, o incluso plana.

En los filamentos jovenes de CLADOPHORA debido al pequeño tamaño que tiene el diametro de la seccion transversal, todos los ejemplares de *Cocconeis* colocan su eje mayor paralelamente al eje longitudinal del filamento (Fig. 2) y lo mismo sucede en *Spirogyra* (Fig. 1).

Sorprendre el hecho de que *Cocconeis* no forme estratos, es decir, que no cabalguen unos sobre otros, por muy densa que sea la asociación formada por ellos.

Un gran paralelismo epibiosico existe entre *Cocconeis placentula* y *Coleochaele scutata* Breb., tanto en los ejemplares procedentes del rio Turia en Valencia, cuanto en las formas endémicas del rio Zujar en Esparragosa del Caudillo (Badajoz), siendo planos los de Valencia porque vivian sobre la pared de un acuario, y discos curvos, los que se desarrollaban sobre los *Scirpus* del rio Zujar.

En la fijación de *Cocconeis* y de *Coleochaete* no hay perforación de la membrana hospedadora (*Cladophora, Spirogyra, Scirpus, Juncus*, etc.), en general, pero en la asociation originada por *Endoderma* sobre *Cladophora* (marismas gaditanas (España) la celula epibiosica se hunde materialmente en la membrana del hos-

Source MNHN Paris

pedante (*Lola, Cladophora,* etc.), llegando a dañar a los albergadores cuando establece contacto con el citoplasma de estos, al cual concluye por destruir.

Endoderma, presenta una tendencia al parasitismo mucho más pronunciada que su convergente *Cocconeis,* produciendo ambos el efecto destructor directamente por todo su cuerpo que está adherido a la planta hospedadora.

Homoeothrix caespitosa, var. *argentinensis* Gonz. Guerr., forma filamentos que se fijan unicamente por la celula basal sobre el sustrato, mineral o vegetal, quedando libre el resto del filamento. Los individuos se yerguen sobre el soporte formando un verdadero cesped pinceliforme y divergente, todos los individuos que coinciden en el punto de inserción para pasar los primeros instantes de su desarrollo infantil en Cordoba (Republica Argentina). Esta Cianoficea tampoco se asimila los tejidos de la Fanerogama que la sirve de apoyo.

Un verdadero estrangulador es *Schizothrix Cavanillesii* Gonz. Guerr., que se enrosca con tal fuerza sobre los filamentos de *Rivularia Cavanillesiana* Gonz., que deja sus huellas indelebles sobre la superficie de la planta hospedadora (charcos marismeños de la provincia de Cadiz).

Efecto parecido produce *Lyngbya epiphylica* sobre los heterogeneos soportes vegetales que le sirven de fijación. Sucede lo propio con *Phaeophila floridearum* Hauck., sobre *Lola lubrica* en la provincia de Cadiz.

Tambien *Dermocarpa Cavanillesiana* Gonz. Guerr., se hunde en la membrana estratificada de *Cladophora,* modificando la morfologia de esta.

Homoeothrix caespitosa var. *argentinensis* forma pinceles más o menos densos e irregularmente distribuidos sobre la planta hospedadora, pero *Gloeotrichia natans* constituye a modo de un « manguito de señora », gelatinoso, que rodea por completo zonas más o menos amplias del tallo u hoja de la planta que la sirve de asiento (*Myriophyllum*), matando a la planta que la sostiene [rio Guadiana en la provincia de Badajoz (España)]. El efecto destructor se exacerba debido a que *Gloeotrichia* se incrusta con frecuencia de sales calizas que endurecen a su talo y esta piedra, bastante dura (*Gloeotrichia : pisum, natans,* etc.), producen la rotura transversal de la Fanerogama y ello hace que veamos trozos de *Myriophyllum* flotantes y con frecuencia aorillados en las margenes de los rios : Guadiana, Zujar, etc., en la provincia de Badajoz.

Hydrurus foetidus en las plantas acuaticas del rio Urbión (Soria : España), en los Pirineos de Huesca (España), en los riachuelos del

Source MNHN, Paris

valle del Gran San Bernado (Alpes italianos), se comporta de la misma forma que *Gloeotrichia natans* formando masas gelatinosas envolventes sobre la planta que la sostiene.

Gongrosira incrustans (Reinsch.) Schmidle, invade con uniformidad zonas superficiales más o menos intensas de *Cladophora fracta* formando un cesped epibiosico tan denso (Fig. 3) que obscurece por completo a la planta subyacente, emergiendo rara vez algun brote rameal que a duras penas logra abrirse paro a traves del marasmo vegetativo que produce *Gongrosira* y cuyo brote tardará poco tiempo en morir.

El *Gomphonemion* (*Gomphonema acuminatum, constrictum,* etc.), y el *Cymbettion* (*Cymbella cymbiformis*) producen un efecto mortifero sobre las plantas acuaticas que las soportan (Fig. 4).

Las celulas de *Cocconeis, Dermocarpa, Lyngbya, Schizothrix, Gloeotrichia,* etc., producen la muerte de la planta hospedadora, en tantos lugares que observé unas especies u otras [rio Primerio : Cordoba (Republica Argentina); sierra de Gerês (Portugal); Urdos (Pirineos franceses); Urbión y Pirineos españoles; Alpes italianos; lagos suizos (Interlaken) y fontines del paseo del Palacio Real (Bruselas)], sin distinguir que se encuentren sometidos a reofilia o que estén aposentados en aguas más o menos estáticas (Sena : Paris; Ebro: Zaragoza; Guadiana: Merida; Guadalquivir : Cordoba, Sevilla; Po : Turin, Ferrara; Lagos : Mayore; Garda : Italia; lagunas de Ruidera (España), etc., pero *Gomphonema* y *Cymbella* ocasionan la destrucción del sustrato vegetal que los sostiene utilizando para ello los pedunculos gelatinosos que producen.

La célula libre de *Gomphonema : acuminatum, constrictum,* etc., una vez que se ha desprendido, se fija por su polo basal que es el más estrecho, sobre la planta hospedante : *Phragmites communis, Typha,* etc., irguiendose sobre ella (no se tiende como lo hace *Cocconeis placentula*) y segrega un pedúnculo gelatinoso, sencillo o ramificado que lleva en sus extremos a las células aisladas o geminadas de la Diatomea.

El pedúnculo unas veces es impar, es decir, consta de un solo eje, pero en muchas ocasiones tiene dos vástagos adosados el uno al otro todo el trayecto y con una o dos celulas de *Gomphonema* en su extremo distal.

La peana del pedunculo de *Gomphonema* queda unida al soporte cuando se rompe aquel. El filamento arborescente desprendido, zarandeado por la corriente, soltará las celulas en el camino e iran a fijarse en otro tallo u hoja de *Phragmites, Typha, Juncus, Scirpus,* etc., para empezar el nuevo ciclo de su desarrollo vegetativo.

Source: MNHN, Paris

Con frecuencia las células desprendidas se fijan sobre su propio pedunculo materno, libre o fijo, originandose asi nuevos centros de producción de células hijas que aumentan los filamentos gelatinosos alrededor de la planta soporte, y originan una especie de « *algodón en rama* » que envuelve por completo al tallo u hoja de *Phragmites, Typha,* etc., formando un « *ficelio* », es decir, un pseudotejido constituido por numerosos filamentos gelatinosos sencillos o ramificados, productores de una maraña hidroficica tan densa, que imposibilita la vida a otras especies en el interior de las mallas de tal pseudotejido esponjoso.

Muchas celulas de *Gomphonema,* erguidas o tendidas, se colocan en la zona periférica del « *ficelio* » para recibir la luz directamente, estando muy desarrolladas las que se encuentran de esta manera.

No he visto celulas de *Gomphonema* apoyadas sobre las valvas de otro individuo de su propia especie.

La muerte de *Phragmites,* de *Typha,* etc., en ciertas lagunas de Ruidera (España), es producida por el « *ficelio* » peduncular y valvar de *Gomphonema acuminatum.* La peana de fijación se asienta sobre la capa de celulas perifericas : epidermicas, en el caso de que empiece la invasión, sobre las células del tejido fundamental (parenquima clorofilico) si este se halla al descubierto, sobre el sistema esqueletico, o de conducción, en el caso de que estén destruidas las celulas externas.

Todos los « *ficelios* » (pseudotejidos laminares o formando masas) enumerados, producidos por unas especies u otras (*Cocconeis, Dermocarpa, Gloeotrichia,* etc.), producen la muerte de la planta hospedadora de una manera indirecta, es decir, no destruyen los tejidos para asimilarse a estos, puesto que en general lo que hacen, es quitar la luz a la planta matriz (*Phragmites, Typha,* etc.), y al carecer esta de tal agente fisico, queda imposibilitada para realizar su función clorofilica y no pudiendo alimentarse, sucumbe por « *asfixia fótica* » (falta de luz).

Laboratorio de Ficologia
Instituto Botanico « Cavanilles »
Plaza de Murillo 2, Madrid.

MNHN, Paris

Fig. 1.

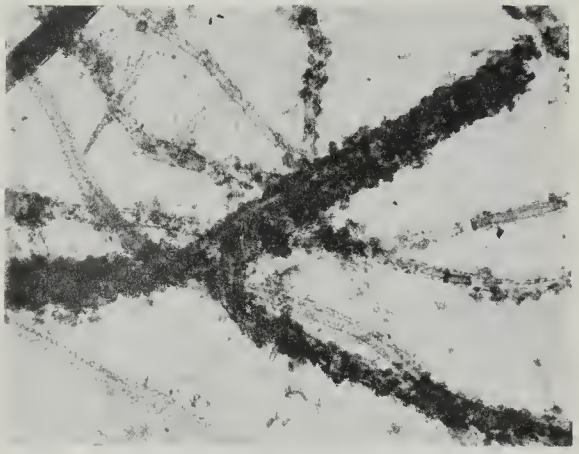


Fig. 2.

Source: MNHN, Paris

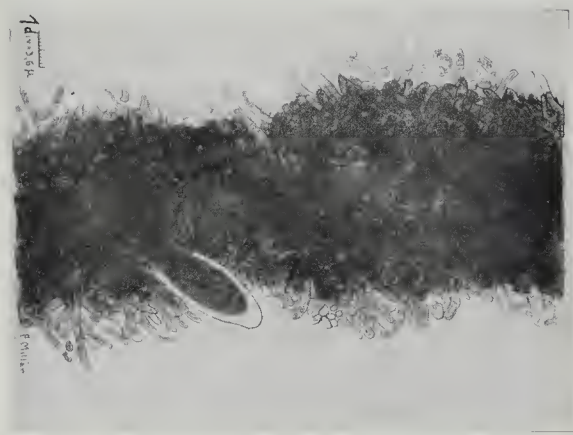


Fig. 3.

Fig. 4.

Source MNHN, Paris

EXPLICACION DE LAS FIGURAS (Pl. 7, 8).

Fig. 1. — Ficosis producida por *Cocconeis placentula* sobre *Spirogyra*. El epifito se coloca en cualquier dirección sobre el soporte, inclusive transversalmente (400 ×). Microfotografia. Cuenca del rio Manzanares. Madrid. Verano.

Fig. 2. — Ficosis producida sobre *Cladophora fracta* por *Cocconeis placentula* (65 ×). Marismas andaluzas españolas. Todo el año. Microfotografia.

Fig. 3. — Ficosis producida por *Gongrosira incrustans* (Reinsch.) Schmidle sobre *Cladophora fracta* Dillw., en el « Pico del Urbión » a 2400 ms. de altitud en la provincia de Burgos, Junio, 1925.

Fig. 4. — Macrofotografia del ficelio de *Gomphonema angustatum* (Kuetz.) Rab., sobre *Phragmites communis* Trin., *Typha*, etc., en la laguna de « San Pedro » (Lagunas de Ruidera : Albacete (España), Junio, 1955.

The possible applicotian of bacterial cytological technique to the taxanomy of Blue-green Algoe

by H. S. FOREST, H. L. CHANGE, and MARJORIE M. DAVIS (1)

In recent years there has been a revival of interest in the cytology of blue-green algae. Representing this work are publications by DRAWERT (1949), ZASTROW (1953), HERBST (1953, 1954), CASSEL and HUTCHINSON (1954), NIKLOWITZ and DREWS (1955), KRIEG (1955), DREWS and NIKLOWITZ (1956). Yet these studies have contrihuted little to lhe basic concepts in the field. Even the electron microscopic studies of DREWS and NIKLOWITZ (1956) show nothing novel in the chromatic area. The older study of SPEARING (1937) could still be judged as representing the best effort in the field.

Several bacteriologists in recent years have discussed and illustrated the controversial structures of nuclei, chromosomes, and mitosis. They have experimented with N number, and the process of sexuality, or at least gene recombination. A compendium of current views on bacterial anatomy is available in SPOONER and STOCKER (1956). In contrast, a recheck of seventy-five publications on the cytology of blue-green algae failed to produce any convincing evidence of a membrane-bounded nucleus, chromosomes, or sexuality. The startling use in *Oscillatoria* and *Nostoc* of the terms haploid, diploid, and polypoid by KRIEG (1955) is unsubstantiated in his brief report, although it may in time prove correct.

This study was an attempt to apply modern bacteriological techniques to a number of blue-green algae. The staining processes selected were the crystal violet-mercuric chloride method (CHANCE, 1952) and the hydrochloric acid-neutral red technique (CHANCE, 1955). The work was done under the direction of Dr L. CHANCE, by Mrs. Marjorie Moran DAVIS.

---

(1) The authors are indebted to Drs Paul R. BURKHOLDER and Mary BELL ALLEN for providing cultures of algae, and to the Faculty Research Committee of the University of Oklahoma for the purchase of additional cultures. Dr J. BENNETT CLARK gave suggestions regarding current bacteriological activity, and Dr W. T. PENFOUND read and criticized the manuscript.

Source MNHN, Paris

According to CLARK and WEBB (1955) crystal violet stains protein nuclear components, but not desoxyribonucleic acid, while neutral red is considered a DNA stain by CHANCE (1956).

Algae were obtained from the culture collections of the universities of Georgia (UG), California (UC), and Indiana (UI). Thirty-three different cultures were stained and examined, including specimens representing five families and fourteen genera.

Algae were transferred from the medium in which they were received to Petri plates containing HOAGLAND'S # 1 solution (HOAGLAND and ARNON, 1938) diluted with three volumes of water in 1 % agar, and the plates were exposed to twenty-four hour fluorescent lighting at about two hundred candle power. The algae were stained after five days growth on the plates. The stained specimens were examined under an oil immersion lens at a magnification of 1 100.

RESULTS.—I.—Staining of current material.—Some algae failed to show differential stain for chromatic materials with either crystal violet or neutral red, the staining being either uniform for the cell, or else it failed to stain. In this group were *Anabaena cylindrica* Lemm. (UG 1 403/2), *Lyngbya* spp. (UG 1 446/2), *Microcoleus vaginatus* (Vauch.) Gom. (UC M 7-2-1), *Nodularia sphaerocarpa* B. & F. (UC M 11-1-1), *Nostoc* spp. (UG 1 453/11), *Nostoc punctiforme* (Kuetz.) Har. (UG 1 453/3), *Phormidium* spp. (UG 1 462/4), and *Pseudanabaena catenata* Lauf. (UI 425). The algae which stained showed rather consistent chromatic patterns with both crystal violet and neutral red. Seventeen were stained by both, and showed similar patterns in almost every case. These were *Calothrix membranacea* Schm. (UG 1 401/1), *Calothrix parietina* (Naeg.) Thur. (UC M 13-1-1), *Nostoc muscorum* Kuetz. (UC M 12-1-1), *Anabaena catenula* (Kuetz.) B. & F. (UI 375), *Oscillatoria tennis* Agardh (UI 428), *Lyngbya* spp. (UG 1 446/2), *Anabaena variabilis* Kuetz. (UI 377), *Nostoc calcicola* Bréh. (UI 382), *Nodularia sphaerocarpa* B. & F. (UC M 11-1-1), *Anabaena variabilis* Kuetz. (UC M 1-2-1), *Fremyella diplosiphon* (B. & F.) Drouet (UC M 6-1-1), *Tolypothrix distorta* v. *symplocoides* Hansg. (UI 424), *Phormidium foveolarum* (Mont.) Gom. (UI 427), *Nostoc ellipsosporum* (Desm.) Rab. (UI 383), *Symploca muscorum* (Agardh) Gom. (UI 617), *Phormidium luridum* v. *olivaceum* Boresch (UI 426), and *Plectonema calothricoides* Gom. (UI 598). Six stained only with crystal violet : *Plectonema notatum* Schm. (UG I 463/1), *Nostoc muscorum* Kuetz. (UG 1 453/12), *Fremyella diplosiphon* (B. & F.) Drouet (UG 1 429/1), *Nostoc spp.* (UG 1 453/8), *Plecto-*

Source MNHN Fa

nema Boryanum Gom. (UC M 9-2-5), and *Gloeocapsa alpicola* (Lyngb.) Born. (UC M 3-1-1). *Chlorogloea Fritschii* Mitra (UG 1 411/1) and *Nostoc commune* Vauch. (Ul 584) stained with neutral red only.

The structural detail in stained cells was not at all comparable to that obtained by ACTON (1914), HAUPT (1923), or SPEARING (1937). Even the best results of less impressive studies by PRAT (1925), POLJANSKY and PETRUSCHEWSKI (1929), and HOLLANDE (1933) exceeded ours. However, discernible patterns were obtained with relatively simple staining techniques, and these patterns showed certain consistencies.

There was a high degree of conformity between the shape of the cell and that of the chromatic area. « Chromatic area » of this paper corresponds approximately to the « nucleus », « central body », « colorless portion », or « nuclear equivalent » in most of the literature on the cytology of blue-green algae. Spherical cells showed spherical chromatic areas, long cylindrical cells tended to have cylindrical chromatic areas, and the same correspondence was present to a degree in oval cells as well. This conformity does not seem to have been mentioned previously, although it was apparent enough after several cells or cell drawings were observed. The question as to whether the relationship is a significant one is not within the scope of this study, but it should furnish challenges in sub-microscopie morphology.

Stain patterns could be assigned fairly well to three categories :

a) a single elongated cylinder or rods which stain rather densely; *b*) a round or oval mass which may be seen as containing large, densely staining granules; and *c*) a round or indefinitely shaped area containing small scattered granules. The only other attempt at categorization which we find reported is that of CASSEL and HUTCHINSON (1953), p. 146 : « 1. a loose, sometimes granular netlike organization; 2. rodlike elements oriented parallel to the longitudinal axis of the cell groups; and 3. a very much condensed organization of various shapes ». These investigators interpreted their observations with silhouette diagrams as well as photographs, noting with some restraint that drawings generally reflected individual interpretations. Indeed, even though both the drawings and text of their report differ from those of our investigation, their photographs indicate that their results agree with ours. A broadly acceptable scheme of nomenclature and symbolism might well hring forth a substantial agreement among many workers on the appearance of the chromatic area in many blue-greens.

Source MNHN Paris

No careful analysis of the structure of the chromatic area is possible with the simple staining employed here. Before the recent papers listed in paragraph one of this paper, the structure of the blue-green cell had been given intensive consideration by SCHMITZ (1879), MCCALLUM (1899), FISCHER (1905), GARDNER (1906), ACTON (1910), BAUMGÄRTEL (1920), GUILLIERMOND (1925), HOLLANDE (1933), and SPEARING (1937). Of these, the most convincing are those of ACTON, who studied the Chroococcaceae, and SPEARING, who succeeded in obtaining interpretable results from *Oscillatoria* and *Stigonema*.

RESULTS. — II. — A comparison of the staining patterns present in the cells of seven families of blue-green algae. — It was SPEARING (1937) who suggested that the chromatic apparatus might be used as a taxonomic character in the blue-green algae since it showed constant differences between species. Within the genus *Oscillatoria*, SPEARING found longitudinally arranged rods in a species with fairly long cells; an irregular long cylindrical structure in *O. splendida* Grev.; and, in *O. tenuis* Agardh, a reticulum of thick chromatic threads, the outline of which corresponded somewhat to the cell shape. The chromatic apparatus of *Stigonema mamillosum* (Lyngb.) Agardh was a reticulum with granules which were densely stained in his photographs, the outline of the chromatic area again corresponding generally to the cell shape.

The simple staining technique employed in this study did not produce details in the chromatic apparatus; but the outline, density of staining, and something of the size of the area and its component granules were revealed. It was postulated, then, that the pattern of the chromatic area might provide a useful taxonomic character at some level of classification. Drawings and photographs of chromatic areas in blue-green cells were assembled from the available literature, and original drawing were made from current material. After some evaluation and selection, drawings of cells representing eighteen genera and seven families were selected for inclusion here as being representative of the species which have been studied. The drawings and re-drawing (sometimes simplified) illustrate the evidence available as to the taxonomic possibilities of chromatic area staining.

The pitfalls in such an endeavor are several. 1) The taxonomy of algal cytologists has not been completely reliable, and in a few cases it was clear that observers had illustrated the wrong species. 2) There is no standard mode of drawing cell structures. Various authors have tended to picture them according to their own taste.

Source: MNHN, Paris

Most of BAUMGÄRTEL's (1920) cells were illustrated as showing a bubble-and-granule structure reminiscent of his « model » blue-green cell. On the other hand, those who saw « chromosomes » or chromosome-like figures, KOHL (1903) and to some extent FISCHER (1905), illustrated similar « chromosomes » for many kinds of blue-greens. 3) The cell is, after all, three dimensional, whereas drawings are flat, so that only a part of the cell can be depicted. SPEARING (1937) was keenly aware of this. He categorized his own drawings as : a) photographic, in which a shallow plane was in sharp focus and depth was illustrated by shaded structures; b) condensed, showing all structures sharply defined as they appeared in their own plane of focus; and c) as a single plane. The present analysis has been accomplished with an awareness of these and other pitfalls, but with the hope that the analysis might be informative and useful.

Chroococcaceae (Fig. 1-4).

Gloeocapsa alpicola (UC M 3-1-1), *G. polydermatica* (PHILLIPS, 1904), and *G. aeruginosa* (HAUPT, 1923) show little concentration of chromatic material, and only light granular staining. The available figures of the family are consistent with the ACTON (1914) concept of the *Chroococcus* cell. There is little difficulty in distinguishing a spherical Chroococcoid cell from a spherical Nostocoid cell. Large heavily stained chromatic areas are shown for *Chroococcus* sp. and *Gloeocapsa alpicola* (Lyngb.) Born. by CASSEL and HUTCHINSON (1953). Judging from their photographs and a familiarity with the species, it would appear that the disparity between their results and ours is a result of technique and choice of symbols.

Chamaesiphonaceae (Fig. 5-7).

Figures of *Chamaesiphon* by BAUMGÄRTEL (1920) and MASSART (1901) were examined, but nothing worth noting could be deduced from them. *Chlorogloea Fritschii* (UG 1411/1), which is somewhat similar to *Chamaesiphon* in morphology, stained with neutral red to show granules scattered through the chromatic area, and probably arranged on chromatic threads just as ACTON illustrated for some species of *Chroococcus*.

Oscillatoriaceae (Fig. 8-25).

Among blue-green genera, *Oscillatoria* has received by far the greatest attention from cytologists, but the only general conclusion

Source MNHN, Paris

which could be drawn here concerning the genus was that the shape of the chromatic area corresponds pretty well to the cell shape. This is true of other genera as well. Yet, certain consistencies can be detected. *O. tenuis* (UI 428) (1) shows the same cylindrical chromatic area which SPEARING (1937) illustrated for *O. splendida* Grev. The dividing *Oscillatoria* cells of FISCHER (1905) and SPEARING appear to differ only in technique of staining and artistic taste. A reticulum of heavy chromatic threads was shown by both species. OLIVE (1904) illustrated *O. princeps* Vauch., which has extremely short cells.

Differences between certain *Oscillatoria* species are of such magnitude as to raise serious doubts concerning the unity of the genus. The conjecture is offered that it will be splintered by future cytotaxonomists.

The other genera of the family have received less attention, and consequently deserve an even more reserved analysis. Two available figures of *Lyngbya* both show a coarse granular staining, three figures of *Phormidium* all show a finer granular stain. The threads shown in GUILLIERMOND'S (1910) *P. favosum* (Bory) Gom. are probably present in all of them. *Plectonema* appears to show some of the markedly different patterns present in *Oscillatoria*. The drawings of *Symploca* mostly conform to their artist's concept of the typical blue-green cell. *Symploca muscorum* (UI 617) and the same species drawn by GARDNER (1906), resemble the pattern of *Lyngbya*.

Nostocaceae (Fig. 26-39).

Nostoc and *Anabaena* have been chosen for cytological studies more frequently than any other genera except *Oscillatoria*. An elaborate picture of an *Anabaena* cell was prepared by HAUPT (1923), who provided the best available ideas on its structure. In addition, at least four different specimens of *Nostoc muscorum* have been illustrated. They have included UG 1453/2, UC M 12-1-1, BAUMGÄRTEL'S (1920) and CASSEL and HUTCHINSON'S (1953). Heavy staining of a distinct chromatic area is consistently present in this family. After dismissing such structures as the chromosomes of KOHL (1903), a similar pattern can be interpolated for other illustrations. The densely-staining chromatic area generally appears coarsely granular, and it is possible that the size of the area may vary with specific significance. However, no generic or specific differences could be ascribed from the information now

(1) Unquestionably mislabeled.

Source: MNHN, Paris

available. Cells of *Nostoc, Anabaena, Cylindrospermum,* and possibly *Nodularia* appear quite similar after simple staining.

Scytonemataceae (Fig. 40-48).

No convincing common pattern could be found among the genera of this family, although all do show distinct, rather heavy staining. In *Scytonema,* threaded chromatic areas were illustrated by ZACHARIAS (1890) and GUILLIERMOND (1907) with rather similar symbolism, and seem to be alike. Even MASSART's (1901) granular area can be understood as representing the same structure. Two of the three *Totypothrix* selected as examples here, *Tolypothrix distorta* v. *symplocoides* (UI 424) and KOHL's *Tolypothrix* sp. (1903), seem to have more or less parallel chromatic rods, while KOHL's *T. lanata* (Desv.) Wartm. looks entirely different.

Stigonemataceae (Fig. 49, 50).

SPEARING's (1937) elaborate technique showed a branching threaded chromatic area for *Stigonema.* FISCHER (1905), using *Hapalosiphon,* brought out coarse granules in a cylindrical central area with simpler methods.

Rivulariaceae (Fig. 51-55).

Illustration of *Calothrix* by BAUMGÄRTEL (1920) showed the same bubble-and-granule structure of his other blue-green cells. The *Calothrix* examined in this study, UC M 13-1-1 and UG 1401/1. exhibited *Nostoc*-like patterns in short cells and the only round pattern found in rectilinear cells in any of the blue-greens. However, the evidence is too scanty to be taken into serious account at this time. Photographs of CASSEL and HUTCHINSON (1953) showed an irregular outline similar to that of the drawing of our UG 1429/1. CASSEL and HUTCHINSON's diagrams indicate the structure as granular with interlaced threads. Long cylindrical cells of *Calothrix* showed a long cylindrical chromatic area.

POLJANSKI and PETRUSCHEWSKY (1929) illustrated *Gloeotrichia* with the threaded chromatic area, varying to parallel rods in the longer cells. The *Rivularia* cells of MASSART (1901) and those of HAUPT (1923) both indicate a similar threaded chromatic area. Staining is rather heavy and distinct.

SUMMARY

The cytology of blue-green algal cells was studied with the aid of bacteriological chromatin staining techniques developed by

Source MNHN, Paris

H. L. CHANCE. Thirty-three different cultures were treated with crystal violet-mercuric chloride and hydrochloric acid-neutral red. Of these, most stained similarly with both methods, a few stained with only one, and some failed to stain. The detail of the chromatic pattern obtained did not compare favorably with that attained by previous investigators who used more elaborate techniques. However, it was noted that chromatic areas and cells almost always corresponded in shape, and that chromatic areas could be categorized roughly as : a) elongated, rather densely staining cylinders; b) rounded or oval masses or bunches of large granules; and c) round or indefinitely shaped areas containing small, scattered granules.

Taxonomic comparison was attempted for a spectrum of stained cells representing seven families. The chromatic pattern of the Chroococcaceae was easily distinguishable from that of the Nostocaceae, but within the genus *Oscillatoria* alone there was almost as much variation in chromatic pattern as was found through the entire range of blue-greens. The taxonomic utility of chromatic area staining cannot be established at present. However, consistent patterns are obtainable with relatively simple staining techniques, and it is suggested that additional observations may well bring into proper prominence the field of cytotaxonomy in blue-green algae.

Department of Plant Sciences
The University of Oklahoma
Norman, Oklahoma.

LITERATURE CITED

ACTON Elizabeth. — Observations on the cytology of the Chroococcaceae. — *Ann. of Bot.*, 28, 434-454, 1914.

BAUMGÄRTEL O. — Das Problem der Cyanophyzeenzelle. — *Arch. Protist.*, 41, 50-148, 1920.

CASSEL W. A. and W. G. HUTCHINSON. — Nuclear studies on the smaller Myxophyceae. — *Exp. Cell Res.*, 6, 134-150, 1954.

CHANCE H. L. — Crystal violet as a nuclear stain for *Gaffkya tetragena* and other bacteria. — *Stain Tech.*, 27, 253-258, 1952.

— Hydrogen chloride gas for effecting staining of internal structures in *Escherichia coli*. — *Stain Tech.*, 30, 53-58, 1955.

— A study of bacterial substances stainable by the hydrogen chloride method. — *Jour. of Bact.*, 71, 285-289, 1956.

CLARK J. B. and R. B. WEBB. — The site of action of the crystal violet nuclear stain. — *Stain Tech.*, 30, 89-92, 1955.

DRAWERT H. — Zellmorphologische und zell physiologische Studien an Cyanophyceen. — *Planta* (Berlin), 37, 161-209, 1949.

Source MNHN, Paris

DREWS G. and W. NIKLOWITZ. — Beiträge zur Cytologie der Blaualgen. II. Mitteilung. Zentroplasma und granuläre Einschlüsse von *Phormidium uncinatum*. — *Arch. für Mikrobiol.*, 24, 147-162, 1956.

FISCHER A. — Die Zelle der Cyanophyceen. — *Bot Zeit.*, 63, 51-130, 1905.

GUILLIERMOND A. — Contribution à l'étude cytologique des Cyanophycées. *Rev. Gén. Bot.*, 18, 392-408, 447-465, 1907.

— A propos des corpuscules métachromatiques ou grains de volutine. — *Arch. Protist.*, 19, 289-309, 1910.

HAUPT A. W. — Cell structure and cell division in the Cyanophyceae. — *Bot. Gaz.*, 75, 170-190, 1923.

HERBST F. — Zytologische Untersuchungen an Cyanophyceen. — *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, 66, 283-288, 1953.

— Über die Kernäquivalente von *Aphanothece caldariorum* P. Richt. und *Pseudanabaena catenata* Lauterb. — *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, 67, 183-187, 1954.

HOAGLAND D. R. and D. I. ARNON. — The water culture method of growing plants without soil. — *Univ. Cal. Ag. Exp. Sta. Cir.*, 347, 1938.

HOLLANDE A. C. — Remarques au sujet de la structure cytologique de quelques Cyanophycées. — *Arch. Zool. Exp. et Gén.*, 75, 145-184, 1933.

KOHL F. G. — Über die Organization und Physiologie der Cyanophyceenzelle und die mitotische Teilung ihres Kernes. — *Jena*, 1903.

KRIEG A. — Nachweis von Kernäquivalenten in Cyanophyceen. — *Experimentia (Basel)*, 10, 204-205, 1955.

MASSART J. — Recherches sur les organismes inférieurs. V. Sur le protoplasme des Schizophytes. — *Mém. Couronnés Acad. Sci. Belgique, coll. in* 8, 61, 1901.

MACALLUM A. B. — On the cytology of non-nucleated organisms. — *Trans. Canadian Inst. Toronto*, 6, 439-506, 1899.

NIKLOWITZ W. and G. DREWS. — Beiträge zur Cytologie der Blaualgen, I. — *Arch. Mikrobiol.*, 24, 134-146, 1955.

OLIVE E. W. — Mitotic division of the nuclei of the Cyanophyceae. — *Beih. Bot. Centralbl.*, 18, 9-44, 1904.

PHILLIPS O. P. — A comparative study of the cytology and movements of the Cyanophyceae. — *Contrib. Bot. Lab. Univ. Pennsylvania*, 2, 237-335, 1904.

POLJANSKY G. and G. PETRUSCHEWSKY. — Zur Frage über die Struktur der Cyanophyceenzelle. — *Arch. Protist.*, 67, 11-45, 1925.

PRAT S. — Beitrag zur Kenntnis der Organisation der Cyanophyceen. — *Arch. Protist.*, 52, 142-165, 1925.

SCHMITZ F. — Untersuchung über die Zellkerne der Thallophyten. — *Sitz. der Niederrheinische Ges. für Nat. und Heil. zu Bonn*, 345-376, 1879.

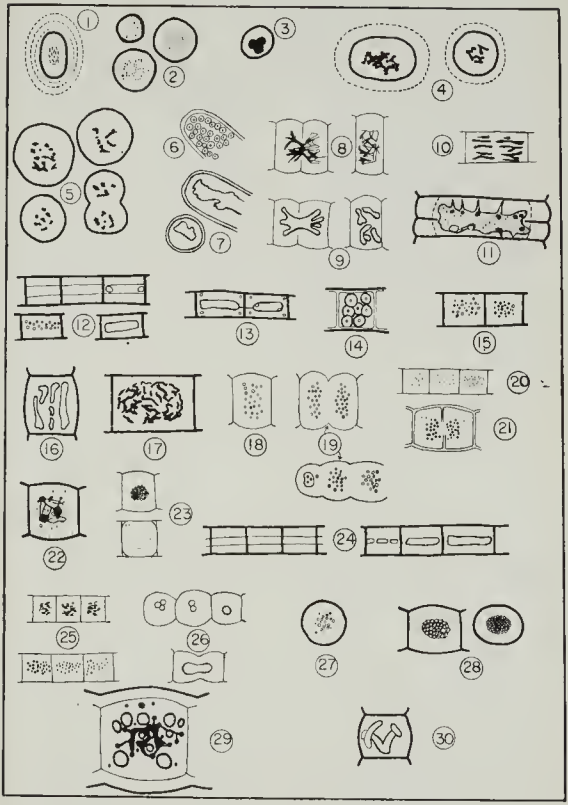
SPEARING J. K. — Cytological studies of the Myxophyceae. — *Arch. Protist.*, 39, 209-278, 1937.

SPOONER E. T. C. and B. A. D. STOCKER (ed.). — Bacterial Anatomy. — *The Sixth Symposium of the Society for General Microbiology, Cambridge*, 1956.

ZACHARIAS E. — Über die Zellen der Cyanophyceen. — *Bot. Zeit.*, 48, 1-10, 17-26, 33-43, 49-60, 65-70, 1890.

ZASTROW E. — Über die Organisation der Cyanophyceenzelle. — *Arch. Mikrobiol.*, 19, 174-205, 1953.

Source MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

FIGURES

PLANCHE X

1. *Gloeocapsa polyderinatica*	PHILLIPS, figure 90
2. *Gloeocapsa alpicola* (Lyngb.) Born.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 29, violet
3. *G. alpicola* (Lyngb.) Born.	CASSEL and HUTCHINSON figure
4. *Gloeocapsa aeruginosa* Kuetz.	HAUPT, figure 12 & 13
5. *Chlorogloea Fritschii* Mitra	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 12, red
6. *Chamaesiphon curvatus* Nordst.	BAUMGÄRTEL, figure 42
7. *Chamaesiphon* sp.	MASSART, figure 12 b & g
8. *Oscillatoria tenuis* Agardh	SPEARING, figure 53
9. *O. tenuis v. tergestina* (Kuetz.) Rab.	FISCHER, figure 57 a & c
10. *Oscillatoria* sp.	SPEARING, figure 38
11. *O. princeps* Vauch.	OLIVE, figure 10
12. *O. tenuis* culture (UI 428), probably *O. splendida* Grev.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 20
13. *O. splendida* Grev.	SPEARING, figure 31
14. *Symploca muscorum* (Agardh) Gom.	BAUMGÄRTEL, figure 13
15. *S. muscorum* (Agardh) Gom.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 34
16. *S. muralis* Kuetz.	FISCHER, figure 63
17. *S. muscorum* (?) (Agardh) Gom.	GARDNER, plate 23, figure 22
18. *Lyngbya aestuarii* (Mert.) Lieb.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 22
19. *L. aestuarii* (Mert.) Lieb.	MASSART, figure 17 & 19
20. *Phormidium luridum* v. *olivaceum* Boresch	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 35
21. *P. autumnale* (Agardh) Gom.	FISCHER, figure 28
22. *P. favosum* (Bory) Gom.	GUILLIERMOND (1910), plate 10, figure 1
23. *Plectonema notatum* Schm.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 6, violet
24. *Pl. Boryanum* Gom.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 17, violet
25. *Pl. calothricoides* Gom.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 36
26. *Anabaena catenula* (Kuetz.) Born.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 19
27. *Ana. variabilis* Kuetz.	MASSART, figure 23
28. *Ana. inaequalis* (Kuetz.) Born. & Flash.	PHILLIPS, figure 88 & 89
29. *Ana. circinalis* (Kuetz.) Rab.	HAUPT, figure 2
30. *Ana. variabilis* Kuetz.	FISCHER, figure 47 b

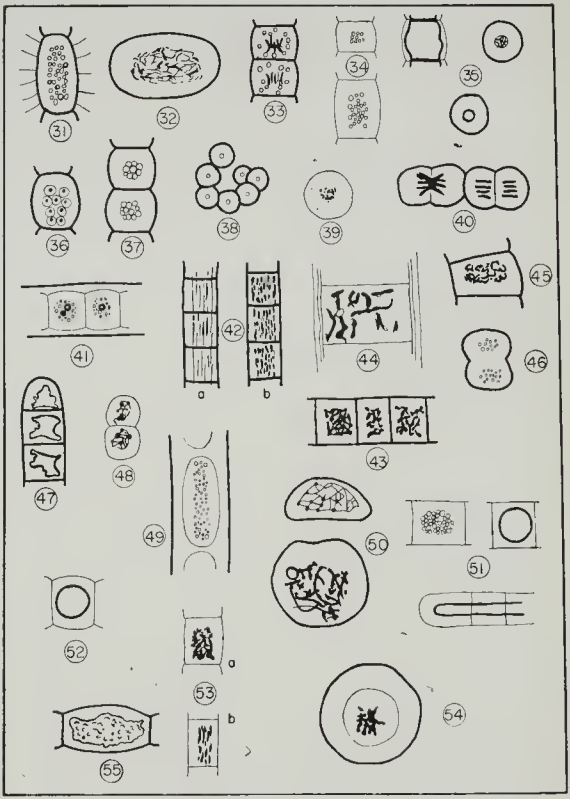
PLANCHE XI

31. *Cylindrospermum* sp.	PHILLIPS, figure 64
32. *Cyl. licheniforme* (Bory) Kuetz.	GARDNER, plate 24, figure 19
33. *Nostoc caeruleum* Lyngb.	KOHL, plate F, figure 1
34. *N. sphaericum* Vauch.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 25
35. *N. muscorum* Agardh	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 16
36. *N. muscorum* Agardh	BAUMGÄRTEL, figure 52

Source: MNHN, Paris

37. *N. muscorum* Agardh	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 7, violet
38. *N. commune* Vauch.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 33, red
39. *N. sphaericum* Vauch.	MASSART, figure 22
40. *Tolypothrix* sp.	KOHL, plate F, figure 14
41. *Toly. lanata* (Desv.) Wartm.	KOHL, plate D, figure 7
42. *Toly. distorta* v. *symplocoides* Hansg.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 30, red (a) and violet (b)
43. *Toly. tenuis* Kuetz.	POLJANSKY and PETUCHEWSKY, plate 2, figure 23
44. *Scytonema* sp.	GUILLIERMOND, figure (1907)
45. *Scytonema* sp.	ZACHARIAS, figure 23
46. *Scyt. cincinnatum* (Kuetz.) Thur.	MASSART, figure 23
47. *Fremyella diplosiphon* (B. & F.) Drouet	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 8
48. *F. diplosiphon* (B. & F.) Drouet	CASSEL and HUTCHINSON, figure
49. *Hapalosiphon pumilum* (Kuetz.) Hansg.	FISCHER, figure 51
50. *Stigonema mamillosum* (Lyngb.) Agardh	SPEARING, figure 2 and 5c
51. *Calothrix parietina* (Naeg.) Thur.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 15
52. *C. membranacea* Schm.	FOREST, CHANCE, and DAVIS, slide # 3, violet
53. *Gloeotrichia pisum* (Agardh) Thur.	POLJANSKY and PETUCHEWSKY, figure 26 (a) and 27 (b)
54. *G. pisum* (Agardh) Thur. (as *Rivularia pisum* Agardh)	HAUPT, figure 7 xs
55. *Rivularia* sp.	MASSART # 28

MNHN, Paris



Source : MNHN, Paris

The Isolation of Algae

by Ralph A. Lewin,

Atlantic Regional Laboratory,
National Research Council,
Halifax, N. S., Canada (1) (2).

■

The following is an account of some methods which have been successfully employed in the isolation of algal cultures. They are not particularly difficult, nor are they especially new. What little originality they have lies largely in the simplification of techniques developed by other workers (2, 3, 8), especially by Pringsheim, whose handbook (9) contains a wealth of valuable information and references to the earlier literature. To Dr. E. G. Pringsheim, Dr. L. Provasoli and Dr. C. B. van Niel, the author is indebted for much guidance.

INTRODUCTION

Clonal cultures, the vegetative progeny of one individual, have long been known to the farmer and the horticulturist, but it was not until the end of the nineteenth century that their use was recognized in studies of micro-organisms. About the year 1880, Koch isolated the first pure cultures of bacteria. He was closely followed by Beijerinck, who isolated the first pure cultures of an alga in the decade that followed. Since then, bacteriology has developed almost entirely from the study of pure cultures, and so, to a large extent, has mycology; yet pure phycology is still in its infancy. Why is this so?

For one thing, as a rule people do not suffer from phycoses, nor do algae ravish our crops or rot our foods, so the need to study them is less urgenl to our immediate human welfare. For another, most algae, even unicellular forms, exhibit enough differences of size and shape and colour to be recognizable when collected from natural habitats. The need to grow them under controlled conditions is, therefore, less keenly felt. And a third reason for the neglect of algal cultures arises from the fact that for growth they

(1) Issued as N.R.C. N° 5137.
(2) Present address : Marine Biological Laboratory, Woods Hole, Mass., U. S. A.

Source MNHN, Paris

normally require light, and the provision of artificial illumination, essential for most physiological studies, may present technical difficulties if overheating is to be avoided. Neither the economist nor the taxonomist has encouraged us to make concerted efforts to culture algae.

We are now beginning to recognise that, in studies of phytoplankton or of the algal flora of soils, there is a need for pure cultures of algae, if we are to have any sure knowledge of the species with which we have to deal, their life-cycles, their physiologies and ecologies. Where would bacteriology be if we eschewed the use of Petri plates and agar slants, and confined our sudies to the natural floras of skin, faeces, sewage and natural waters? How much would we know of the mechanisms of fermentation or wood-rotting if our observations had been restricted to samples taken directly from brewery or wood-pile? Yet, until recently, it was at such a stage in development that phycology found itself.

But cultured algae are often unrecognizable, some « classical » taxonomists still protest; they are not « natural ». This, of course, is in part true; no more are cultured bacteria. However, we can in culture control the environments in which our organisms grow, and can see to what extent the nutrients in the medium, or such factors as temperature or desiccation, can influence their morphology. With such information we are in a position to face field collections with more confidence that our eventual specific determinations will have specific meaning.

Let us grant, then, that pure cultures of algae are useful, indeed essential, for many investigations. Are they really as difficult to obtain and handle as one might gather from the average microbiology textbook? The answer, of course, depends on the species to be isolated. Many have so far resisted all attempts at culture, but others present no problems at all. Indeed, distilled water and many reagent solutions which stand around laboratories tend readily to become infested with *Coccomyxa* or *Chlorella*, indicating the tolerance of these algae for conditions in laboratory culture.

If we desire a pure culture of an alga, our approach to its isolation should be determined by our ultimate objective. On the one hand, we may have a physiological problem requiring an alga, for example, capable of withstanding high temperatures or growing at low light intensities. On the other, we may be interested in studying a specific alga, characterized for instance by its abundance at certain seasons and by the production of substances toxic to animals. Isolation methods should be determined by the

Source MNHN, Paris

goals in view. In almost all cases, however, the same three technical steps are involved, and it is well to ascend these one at a time, if possible, if stumbles are to be avoided. These steps are :

I. Crude culture.
II. Uni-algal, clonal culture.
III. Pure, bacteria-free culture.

Finally, we should define the minimal and optimum environmental conditions for growth and reproduction, though these considerations lie beyond the scope of this article.

I. — *SELECTIVE CULTURES.*

A species tailored to special physiological requirements can be selected by enrichment culture, a primitive ecological exercise in which the environment is provided first. A medium of any reasonable composition is inoculated with a mixture of species from a suitable source, and illuminated at the light intensity and temperature which the investigator plans to use in subsequent experimentation. He then waits for the proliferation of algae which can tolerate and flourish under such conditions. Those appearing in the earliest crop may be expected to grow well when subcultured in the same medium; those appearing later in the succession may be slow growers, or may be adapted to changes produced in the medium by the first organisms to appear. At least one crude sub-culture should be made, since the original inoculum may have introduced nutrient factors, or may have affected the pH, so that the first enrichment was not actually of the composition provided by the experimenter. Moreover, it is necessary to provide an opportunity for species which may be rare in the original inoculum to gain ascendancy over their more abundant, but less well-adapted, fellows.

A simple example here will suffice. Suppose that we are interested in obtaining an alga capable of utilizing light with high efficiency. We might then prepare a simple solution of inorganic salts so balanced that essential nutrients (a nitrogen source, in particular) are present in adequate amounts for good growth, and precipitation after autoclaving is reduced to a minimum. It should be adequately buffered as to pH and trace elements, by the use of such agents as « Tris » (1) and « Versene » (2). As inoculum we

(1) Tris (hydroxymethyl) amino-methane : Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo., U.S.A.
(2) Ethylene-diamine-tetra-acetate : Bersworth Chemical Co., Framingham, Mass., U.S.A.

Source Museum

could use soil or mud, or scrapings from caves or dim crannies where a few algae might eke out an existence, and we could set up enrichment cultures in flasks set at intervals from a light source. Algae which develop, within a reasonable time, at the dimmest light intensity would be subcultured under similar conditions, and finally purified in some way for further physiological study.

It. — *CLONAL ISOLATION OF A SELECTED ALGA.*

On the other hand, if the alga is already defined by the problem — a specific flagellate, say — we have first to find conditions under which it will survive in the laboratory. Only then can we narrow the limits of light, temperature and nutrients to determine favourable conditions for growth. Since the object at this stage is simply to obtain active algal multiplication, any empirical expedients, such as the addition of soil extract, or the use of natural sea-water for marine organisms, can be employed. We are not yet concerned with refinements of the medium, but only with the establishment of a crude culture from which we can proceed to the next step.

This is the establishment of a clonal culture, in which we can be reasonably sure that all cells are genetically identical. If we are to be concerned with sexual reproduction and have reason to believe that the species is heterothallic, then several separate clones should be obtained in the hope of finding complementary mating-types. The methods of choice will differ according to the type of alga, but basically they all consist of spatial isolation of single cells, or portions of thallus which can be assumed to have derived from a single cell. With a little ingenuity, and some knowledge of the morphology of the organism, this step can usually be accomplished without difficulty.

A. — *Streaking on agar.* — Small unicellular algae with firm cell-walls or pellicles (e. g. *Chlorella* or *Chlamydomonas*) usually grow well on agar, and can be isolated in Petri plates by the routine streaking procedures used by bacteriologists. Silica-gel media are somewhat difficult to prepare, and in most cases offer no advantages over agar. The mineral nutrient medium, without organic supplements, is solidified with 1 % agar for freshwater species, or 1,5 % agar may be preferable when the salinity of the medium is in the region of sea-water (3 % NaCl) or higher. A wire loop is used for streaking, in preference to a needle, since algal cells are relatively large and cultures usually contain fewer cells than do bacterial suspensions. A pattern of « dilution cross-streaking »,

Source MNHN, Paris

such as that shown in Fig. 1, has been found suitable. Plates usually have to be illuminated for a week or two before colonies of the various algal species present have grown sufficiently large to be distinguishable. They should be examined at intervals, since unwanted amœbae, blue-green algae or pennate diatoms have a tendency to spread over the surface and contaminate colonies hitherto distinct and separate. It is good practice always to prepare at least a second « streak plate » from each selected colony, and to re-isolate, in order to exclude the possibility of algal contamination. It is also, of course, advisable to check under the high power of a compound microscope to make sure that one is isolating the desired species.

B. — *Single-cell isolation on agar.* — When a desired cell type occurs sparsely in a mixture of other algae or debris, the following technique may be followed with advantage. Pour about 15 ml. of 1.5 % agar, made up in any non-toxic solution of suitable tonicity, and allow the surface to dry slightly, forming an invisible pellicle. Place a small drop or clump of the mixture on the surface, and then, with a fine needle under the binocular microscope, draw out a selected cell along a zigzag trail until it is well isolated from the rest. When the liquid along the trail has been absorbed into the agar, cut out a small block on which the cell stands alone, or draw up the isolated cell into the tip of a fine pipette, and transfer it to a tube of fresh liquid medium. Even quite large portions of filamentous thalli can be freed from contaminating algae in this way.

In the case of algae which creep, like some pennate diatoms or blue-green algae, we can often make use of this property by letting the cells isolate themselves. Allow them several hours to migrate over the surface away from the clump, and then isolate them as before. Sometimes unidirectional lighting from one side of the dish aids in their orientation. Some species will burrow through agar, enabling one to pick them from the underside of an inverted slab of agar, but this is usually unnecessary.

C. — *Capillary pipette method for flagellates.* — A cell on the surface of agar is subjected to physical forces which tend to flatten it, forces which may be strong enough to disrupt naked cells and even walled cells with diameters of c. 25 μ or more. For these more delicate types we have to resort to more gentle handling in a continuous liquid phase. With a fine capillary pipette (soft glass is quite suitable, and easier to draw than Pyrex), a few cells are selected, one at a time, from a drop of the original sus-

Source MNHN Paris

pension. They are expelled into a droplet of a suitable fresh medium, transferred from that to a second droplet, and then isolated singly in tubes of medium in which they are allowed to grow. Since at this stage we are only interested in eliminating contaminant algae, special aseptic techniques need not be employed, but a few precaution should be observed.

1. — The bore at the tip of the pipette should be several times the diameter of the cells being isolated, and the cells should not be drawn up or expelled forcefully. These are precautions to reduce the danger of cell rupture by the shearing action of fluid flowing through a narrow cylinder.

2. — The droplets should be supported on an isotonic agar surface, rather than on a glass slide. This is especially important when the atmosphere is dry or when marine forms are being isolated, since otherwise evaporation from the droplets could soon raise the concentration of the salts to lethal levels.

3. — The cells should be subjected to a minimum of handling until their limits of tolerance have been established by experience. It is usualy more practical to isolate a score of cells quickly than to wash three or four exhaustively and risk losing all as a result of excessive manipulation.

This method has been extensively and successfully employed by Pringsheim and by Provasoli for motile, flagellate unicells, which can often be recognized at low magnifications by their characteristic swimming movements. Such organisms have the further advantage that one can allow them to swim clear of contaminant cells and debris. Phototaxis may provide an additional aid in isolation, the cells being introduced at the darker side of the droplet and allowed to swim towards the light into fresh medium.

D. — *Filamentous algae.* — When attempting to isolate species of filamentous algae and forms with more complex thalli, it is a good precept to work with unicellular stages whenever possible. Some filamentous blue-green or green algae, such as strains of *Nostoc* or *Hormidium*, tend to fragment into single-celled sections in old cultures, so that they can be treated like unicellular algae and isolated by streaking or by individual cell isolation on agar. Some thalloid species of *Prasiola* produce akinetes which may be handled in the same way. Other filamentous forms can be fragmented mechanically by chopping with a needle or scalpel or with the edge of a microscope slide; clumps of some of the more tenuous blue-green algae can be dispersed into short segments in a Thomas homogenizer of the pestle-and-mortar type. The smaller

Source: MNHN, Paris

the fragments, the less their chance of being associated with contaminants; one may expect a clone to develop from even a single cell, provided that it has not been killed in the process.

With other green or brown algae one can often take advantage of the production of zoospores, which may occur spontaneously, especially when the thalli are brought into a laboratory warmer than their original habitat. Such zoospores may be streaked on agar or isolated with a capillary pipette in the same way as permanent flagellates; species of *Stigeoclonium, Enteromorpha, Ectocarpus* and *Chordaria* have been successfully isolated in this way. Here, it may be pointed out, are special circumstances in which it is expedient to try to telescope two steps, the culture of a clone, and its isolation in bacteria-free condition, into one (see III, F).

III. — *ELIMINATION OF BACTEBIAL CONTAMINANTS.*

Starting from a uni-algal culture obtained as described above, one can now go on to obtain pure cultures by some of the techniques already described, with only slight refinements to eliminate bacteria. As far as possible, one should work from young cultures in liquid media, in which the algal cells are robust and growing actively, and insufficient organic matter will have accumulated in the medium to have produced a dense bacterial flora. Bacteria, though not in evidence, may, nevertheless, be present in numbers equalling those of the algal cells, or even exceeding them by a factor of 10 - 100. Usually only 2 - 3 species occur in abundance as contaminants in any one culture, but more than one step may be needed to eliminate them all. For this reason, too, one should progress from the most recent subcultures, with fewest contaminant species, thus providing the best source of algae for the final stages or purification.

A. — *Streaking on agar.* — Suspensions of unicellular algae capable of growth on agar should now be streaked on a medium containing a trace of organic matter, e.g. 0.02 % Bacto-tryptone (1). This is hardly likely to inhibit algal proliferation, and indeed may well promote it, but its chief purpose is to encourage growth of bacterial colonies. The plates this time are incubated in light for only a few days, just sufficient to allow development of pin-point colonies visible under the dissecting microscope. A longer period is to be avoided, otherwise bacteria may spread over the surface to hitherto uncontamined colonies. Agar-digesting bacteria

(1) Difco Laboratories, Detroit, Mich., U.S.A.

Source: MNHN, Paris

occur commonly in marine cultures, but they rarely present a serious problem in plates incubated for only a few days. Well-isolated, apparently uncontaminated algal colonies are cut out with the flamed tip of a flattened needle, and transferred to tubes of sterile medium. It may be necessary to repeat the streaking procedure two or three times before bacteria-free colonies are obtained. These are usually best sub-cultured in liquid media, but for some blue-green algae and pennate diatoms agar slants are often found preferable. ALLEN (1) finds that some blue-green algae do not take kindly to cultivation on the surface of agar. She has achieved considerable success, especially with unicellular forms, by using poured agar plates, and excising colonies from within the agar mass.

B. — *Isolation of single cells or filaments on agar.* — Even if they do not multiply on agar, cells which are bacteria-free can be detected and isolated in the manner just described. But usually it is simpler to isolate cells individually on agar, and to free them from adherent bacteria by drawing them with the point of a needle for a few millimetres over the surface. Even filaments can be cleaned in this way, looped over the needle tip and dragged through the agar beneath the surface.

C. — *Washing by capillary pipette.* — Washing is the preferred method for the larger flagellates. Here again agar, rather than glass, should be used to support the droplets, which can readily be applied with a flamed wire loop dipped into the sterile nutrient solution. Before we proceed to observe all the precautions recommended by PRINGSHEIM, it is worth a few moments to consider the various potential sources of contaminant bacteria. The air can be usually neglected; even if 80 separate viable bacteria fall on an exposed plate in the space of ten minutes, there is only a 1 % chance of any given square millimetre of agar surface being so contaminated. The pipette will be sterile if it has been recently drawn out. The cotton plug, frequently introduced into the wide end of the pipette, can probably be dispensed with, except as a barrier to saliva. (Try bubbling exhaled air into nutrient broth for various periods, if you doubt its low bacterial count!). The medium, however, is the chief source of contamination, so let us do a few simple calculations. To err on the side of generosity or pessimism, let us say that it contains 1,000 bacteria for each algal cell. Let us assume, further, that our cells are picked up in 1 mm^3 of medium (another overestimate), and expelled into a droplet 10 mm^3 or more in volume. Then each repetition of this operation dilutes the bacteria at least by a factor of 10; and, by the fourth

Source: MNHN, Paris

transfer, medium contamination is negligible. Usually the passage of 10 - 20 cells each through 3 droplets suffices to give a few pure cultures; with every further passage more cells become lost and viability tends to be reduced.

The most troublesome bacteria to eliminate are those actually adhering to the algal surface, especially when it is gelatinous. However, this difficulty is not serious in those algae which, like *Chlamydomonas,* produce daughter cells endogenously, since each new generation starts with a clean skin. We know very little about the epiphytic bacterial flora of naked flagellates, but it seems unlikely that contaminants, if they occur, could be detached by further washing without serious damage to the algal cell. In such cases, perhaps, the use of selective antibiotics would be indicated (see III, E).

D. — *Surface sterilization of filamentous thalli.* — Filamentous algae can sometimes be surface-sterilized by a brief immersion in a solution of a bactericide such as hydrogen peroxide, sodium hypochlorite, or chlorine water. Mercuric chloride has been employed for this purpose, but the toxic cation is difficult to remove once it has been adsorbed, and less persistent agents are preferable. If necessary, the alga is cut up into short but viable lengths, and these are immersed in commercial-grade sodium hypochlorite solution, e. g., 0.1 or 1.0 % eau de Javel, for 1, 3 or 10 min. They are then rinsed immediately in two changes of sterile medium, and fragments of suitable length isolated into separate tubes. If it is not to kill the alga, surface sterilization may depend for its success on the presence of relatively thick, impermeable cell walls. For this purpose, one may sometimes take advantage of specially resistant cells, such as the hypnocysts of *Pithophora,* spores of *Cylindrospermum,* or oospores of *Chara,* but difficulty may be experienced in obtaining germination of such « resting » stages.

Success has been reported in the use of ultra-violet light for sterilization of certain blue-green algae (5), though the mechanism of its action is not clear. If the filaments were rotated so that the bacteria on all sides received a lethal dose of radiation, it would seem likely that the algal filaments, themselves only a few microns in diameter, would also have succumbed. There appear to be no critical data on the differential sensitivity of bacteria and algae to ultra-violet radiation. It is probable that, at controlled doses, most of the bacteria and most of the algal cells are killed, but that, among the survivors, there are some viable algal cells which happen to be dissociated from living bacteria; and it is from these that pure clones can be established. Incidentally, the chances of such

Source MNHN Paris

cells bearing U-V induced mutations, and therefore differing from the parental stock, are probably negligible for our purposes.

In some cases, filamentous algae can be isolated and purified by techniques similar to those employed for mycelial fungi. From the edge of a colony of *Stigeoclonium* or *Phormidium* growing on agar, young filaments at or below the surface can he excised singly, and may give rise to pure cultures when transferred to fresh media. However, as algae generally grow less rapidly than fungi, and bacterial contaminants tend to spread along the interfaces bounding the filaments, such attempts are often unsuccessful.

E. — *The use of antibiotics.* — Since the introduction of antibiotics into therapy, the problem of obtaining pure cultures of algae and other organisms has been considerably facilitated. Probably the most favoured technique involves serial transfer, at 1-3 day intervals, through nutrient solutions containing penicillin, streptomycin, or a suitable mixture (6, 11). For example, pure cultures of *Goniotrichum*, a filamentous red alga, were obtained after a single passage in a medium containing streptomycin (filter-sterilized), since the alga proved capable of slow growth in the presence of concentrations as high as 0,05 %, whereas the associated bacteria were all killed in media containing more than 0,01 % of this antibiotic. However, it should be remembered that the algae comprise organisms with widely different sensitivities to such agents (10). For each species, preliminary tests, to determine the tolerance levels to each antibiotic, will probably repay the effort so spent. It might be worth pointing out (4) that many of the algae so far isolated with the help of antibiotics (6, 12) could easily have been obtained by more old-fashioned means.

F. — *One-step purification.* — In attempting to obtain pure isolates of the larger thalloid forms, it is often expedient to by-pass the preliminary step of isolating clonal but contaminated cultures. This is because zoospores are endogenously formed, and, up to the time of rupture of the parent sporangium, bacteria-free, a condition which may not recur until alfter the completion of a vegetative cycle, weeks or months later. It is therefore recommended that the thallus be well rinsed and immersed in sterile medium, in which the spores are discharged and may accumulate at the lighted edge of the meniscus in the culture vessel. They should be isolated as soon as possible, by streaking on agar or by pipette-washing techniques, before bacterial proliferation can get under way, and it is often possible to achieve pure cultures by this means.

Source: MNHN, Paris

Other circumstances may arise in which it is preferable to proceed directly from natural material to pure culture. For example, it seems that in nature many planktonic diatom cells are free of associated bacteria, though contaminants multiply rapidly when samples are transferred to the laboratory in a restricted volume of medium, in which extra-cellular metabolites tend to accumulate. In such cases, provided suitable conditions for cultivation can be found, it is preferable to isolate cells as soon as possible after collection, before bacteria have had an opportunity to multiply. Certain algae, including many flagellates, require specific organic nutrilites for growth, and, unless these are required at very low levels of concentration (e. g. vitamin B_{12}, of which 0.1 μ g/l usually suffices), bacterial contaminants may be encouraged when such substances are added. Moreover, one usually does not know, before pure cultures have been established, what precisely are the organic nutrilites required by the alga, so it may be necessary to add a complex mixture of supplements, such as yeast extract. In many cases of this sort, one has to forego the intermediate steps of algal isolation and try to proceed directly to pure cultures. Cells of the phagotroph *Poteriochromonas* were isolated by capillary pipette and transferred into dilute suspensions of the bacterium *Escherichia coli*, in this way establishing two-membered cultures, from which pure cultures were obtained later when the nutritional requirements had been determined. But here we are encroaching into the realms of experimental protozoology, and perhaps overstepping the bounds of this discussion of algal cultures.

IV. — *SPECIAL CONSIDERATIONS.*

A. — *The purity of cultures.* — It should be stressed that, in all cases where pure cultures are required, they should have originated from a single cell or filament. To introduce more than one unit into a culture tube is not only unwise from this standpoint, but also wasteful of effort. The unwisdom lies in the fact that, by starting with more than one cell, we may vitiate our ideal of a clonal culture. The waste of effort is apparent if we recognize that each inoculum increases the chances of contamination. For let us assume that we are isolating flagellates by capillary pipette, and that each has one chance in 3 of being bacteria-free. Two cells in a tube have then only a 1/9 chance of initiating a pure culture; so that, with twice as much work, we have reduced our chances of success by a factor of 3. Three or more cells per tube would be correspondingly worse. It has been argued that, in the case of a sen-

Source: MNHN, Ea

sitive species, the presence of several cells in a tube might possibly increase their chance of survival, by liberation of some sort of ectocrine; but this is extremely unlikely. A cell 15 μ in diameter has a dry weight of about 10^{-9} g. Even if this comprised as much as 1 % of such a hypothetical ectocrine, and even if it were completely dissolved in 10 ml. of culture medium, this would give a final concentration of 10^{-6} mg. l., almost certainly negligible.

B. — *Tests for contaminants.* — After a period, those of our isolates which survive and grow give rise to cultures of cells dense enough to be visible to the naked eye. Obviously this will take longer than it would after a mass inoculation; at a reproductive rate of one doubling per day, we must wait about 3 weeks for the cell population to rise from one to a million. To determine which of these cultures are contaminated and which bacteria-free, it is usually only necessary to transfer a loopful to the surface of an agar medium compounded with 0.1 % Bacto-tryptone or some similar protein hydrolysate. On a single Petri plate as many as 50 spots can be tested, regularly spaced on a coded lattice so that each is referable to a single culture. After 2-3 days' incubation at room temperature, the plate is examined under the dissecting microscope, when bacterial growth is readily apparent in spots from contaminated cultures. Clones suspected of being bacteria-free can be further tested by sub-culture in some nutrient broth, perhaps followed by streaking on agar; but such refined tests are only necessary for ultimate assurances of purity. It is conceivable that highly specific symbioses may occur, in which cryptic or very fastidious bacterial associates would not reveal themselves by such tests, but I know of no such case. Usually, if bacteria are present, they are all too apparent in organic media.

C. — *Algae and fungi as contaminants.* — The chances of aerial contamination by algae are negligible. The cells in air are numerically rare, and those of almost all species are killed by drying. Filtration through ordinary filter-paper does not remove all viable algae from natural waters; but no algae can withstand even a brief period of boiling. Boiled sea- or lake water, for example, is therefore quite satisfactory as a base for crude cultures of planktonic algae.

Fungal spores are common as aerial contaminants, but the elimination of fungi can usually be effected by a single passage of the alga through a liquid medium. In the few cases where a fungous contaminant proves difficult to eliminate by ordinary means, the use of one of the new mycostatic agents might be worth investigating.

Source MNHN, Paris

V. — *MAINTENANCE OF CULTURES.*

The viability of algae in culture varies considerably with species. Some should be transferred every 2-4 weeks, others will last as many months at room temperatures without serious reduction in cell viability. As a general rule, it is probably advisable to keep cultures, on agar if possible, at temperatures and light intensities lower than those at which they were maintained during active growth. Many algae, however, soon die when subjected to freezing temperatures. Most algae are killed by drying, so evaporation should be reduced as much as practicable. However, the sealing-over of cotton-plugged tubes is not to be recommended without special precautions, since fungal spores which may be present in the top of the plug readily germinate in the humid conditions so produced, and the hyphae migrate down moist glass surfaces to invade the culture. Screw-capped glass vials provide the best solution of this problem, if the material from which the caps are made retains its shape and remains physiologically inert after autoclaving. In using them, however, we should not forget that algae are photosynthetic organisms. If the caps are screwed down during growth, access of CO_2 is prevented; if the level of illumination exceeds the compensation point, the cells may die rapidly, perhaps as a result of photo-reduction of some essential cell constituents. Caps of polyethylene, which is 100-1000 times as permeable to CO_2 as to water vapour, may provide a further improvement, when this material is made available in modifications which can be autoclaved without deformation.

Valuable cultures, in some cases only isolated after considerable effort, should not run the risk of being lost to science as a result of an accidental breakage, or of failure of the refrigeration equipment in one laboratory. For this reason, it is recommended that, as soon as conveniently possible, sub-cultures be dispersed to other laboratories, to colleagues interested in similar phases of investigation, and to algal type-culture collections (see VIII).

VI. — *SPECIFIC IDENTIFICATION OF CULTURED ALGAE.*

Since most algal species have been originally described from natural aquatic habitats and not from cultures, condilions approaching the natural should be reproduced as closely as practicable before any taxonomic study is undertaken. As a rule, young, actively growing cultures in dilute (but not nutrient-depleted) media provide the most characteristic material for vegetative mor-

Source: MNHN, Paris

phological features. As for the induction of reproductive structures, this would necessitate a chapter in itself, beyond the scope of the present article.

VII. — *TECHNICAL CONSIDERATIONS.*

A few words might be added regarding certain special precautions which have been recommended for algal culture work.

A. — *Microscopes.* — A binocular dissecting microscope, with a standard mirror, or a direct source of light beneath the stage, is to be recommended. The magnification and lighting are factors to be experimented with, and only experience can indicate the most favourable conditions, which will be somewhat different for each investigator and each alga. A combination of transmitted and reflected light, or light transmitted obliquely so that the algal cells gleam against a dark background, will often facilitate the manipulatory procedures. The use of thin layers of clarified agar reduces confusion of cells with glinting foreign particles in the medium. It is often convenient to move the Petri plate with one hand and the instrument with the other, experimenting until a favourable *modus operandi* is discovered. Hand supports on either side of the stage are a great help. Allow a few minutes for tensions to relax and fingers to become steady; even a slight smoker's tremor looks like parkinsonia at 50x diameters. An hour or so of practice is time well spent; this is usually sufficient for any but the most delicate operations.

B. — *Instruments.* — As for manipulative instruments, the following four will generally suffice, made from nichrome or platinum wire and mounted in conventional handles. (1) A loop about 4 mm. diameter, for streaking, etc. (2) A smaller loop, less than 1 mm. diameter, for picking isolated colonies which happen to lie close to potential contaminants. (3) A needle, sharpened on fine sandpaper and bent through 30-40° to form a clawed end. (4) Another needle, flattened by hammering into a small spatula.

A minute loop of tungsten wire, thinned by anodic etching in acid to a hair-like gauge, has been recommended for isolating selected diatom cells from a mixture. A hypodermic syringe, with a needle filed off almost transversely, has been used for picking colonies from agar plates. And doubtless the experimenter with a modicum of ingenuity will devise other gadgets to suit his particular tastes and purposes.

Source: MNHN, Paris

C. — *Glassware.* — Glassware, preferably of a borosilicate glass such as « Pyrex » (1), should of course be clean, washed as soon as possible before the dirt dries on. Chromium ions tend to adsorb to the surface of glass, and may leach out later into culture media (7), so I prefer to avoid chromate cleaning mixtures. Concentrated sulphuric acid, saturated with commercial-grade sodium nitrate, is cheap, and seems just as effective. Where detergents are used, special care should be taken to wash them out, since they are very inhibitory to many algae. Tubes then rinsed and soaked in hot tap water, followed by two changes of distilled water, are adequately cleaned for most purposes; the multiple changes recommended by some faddists are unnecessary. (Test this for yourself with, say, tubes soiled with milk and ink; what remains attached to the glass after three rinses is virtually unaffected by another 20). Glassware, once washed, should not be inverted over dirty wooden pegs, but allowed to drain and dry freely in air.

D. — *Media.* — Since Bold and Pringsheim have extensively discussed the composition of culture media, only a few notes will be added here.

Solutions should be prepared with distilled water which has not been in prolonged contact with copper or brass tubes or fittings. (However, in many cases the copper so introduced may be at a concentration considerably below that deliberately added with other essential trace elements to the medium). A little commonsense might be used here : to employ scrupulously washed glassware and triply-distilled water in the preparation of media which are ultimately supplemented by 1 % unwashed agar or 10 % soil extract is somewhat unreasonable. In dealing with organisms from littoral rock-pools or brine-springs, it is recommended that preliminary tests be made to ensure isotonicity of culture media, or to adapt the algae to dilute salt concentrations more convenient for laboratory use than those of the natural habitat. The initial pH of a medium usually changes after autoclaving as atmospheric CO_2 is absorbed, so it is well to allow a day or so between sterilization and inoculation.

The use of ammonium salts is generally to be avoided, for at least three reasons. Firstly, in media of slightly alkaline pH, even a few parts per million may be inhibitory or toxic to certain sensitive forms, notably some diatoms, Chrysophyceae and Dinophyceae. Secondly, ammonia distils off when media of high pH are autoclaved, the nitrogen concentration being thereby reduced to an

(1) Corning Glass Works, Corning, N. Y., U.S.A.

Source MNHN Paris

unknown quantity. And thirdly, the uptake of ammonium ions by tolerant species is almost always more rapid than that of nitrate, with the result that the pH drops. In weakly buffered solutions this may proceed to lethal levels; but, even if it does not, it enormously reduces the rate of transfer of atmospheric CO_2 through liquid media.

E. — *Incubation chambers.* — Culture rooms, cupboards, or modified refrigerators provide more constantly controlled conditions than the traditional north window. Whenever possible, an emergency thermostatic cut-out should be included in the light circuit, so that, in case of a breakdown in the cooling unit, the culture cabinet may not be transformed into an oven by the heat output of the lamps. Lights providing 100-300 foot-candles (1.000-3.000 lux) are suitable for growth of most algae, though some blue-green algae tend to be inhibited by the higher intensities. There is no unequivocal evidence that alternation of light and dark periods is essential for the growth of any alga. Most fresh-water species which have been isolated in culture can grow at temperatures up to 20° or 25° C., but not many can tolerate much higher temperatures. Such few marine algae as have been cultivated from temperate shores seem to prefer a lower range of 10°-15° C..

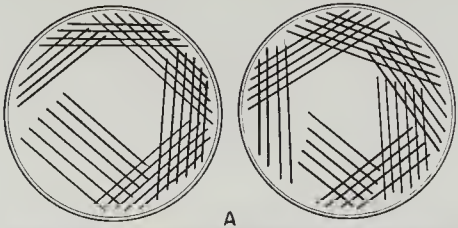
F. — *Reduction of contamination.* — Petri dishes should be incubated upside-down, otherwise there is danger of water condensing on the underside of the lid and dripping into the middle of the agar surface. It is convenient to close agar slants with cotton plugs; but rimless test-tubes containing liquid media can be more quickly and cleanly covered by glass caps (1), which fit loosely over the top (Fig. 2). The test-tube rim should be slightly notched, to reduce the danger of an air-tight seal which would prevent access of atmospheric CO_2. Such caps admit light from above, and retain sterility in a zone outside as well as inside the rim, so that, if desired, cultures may be transferred by pouring directly into a fresh vessel. With no other precautions, even rich broth cultures retain sterility for months under normal laboratory conditions; however, the reduction of draughts or of wide ranges of temperature is generally desirable.

VIII. — *CULTURE COLLECTIONS.*

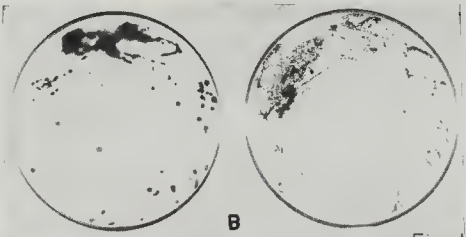
A large proportion of the algal cultures in the collection which PRINGSHEIM initiated at Prague during the 1930's were brought to Cambridge just before the second World War. Other offshoots

(1) E. g. « Cencaps » : Central Scientific Co., Cambridge, Mass., U.S.A.

Source MNHN, Paris



A



B

Fig. 1

Fig. 2

Source MNHN, Paris

of this original collection, now considerably augmented, have more recently been set up and are being maintained in Bloomington, Indiana, in the New York Botanic Garden, and elsewhere. In addition, smaller culture collections for various purposes have been started in a number of centres. The fact that the Cambridge collection now lists some 800 strains, and the two large U. S. A. collections more than 400 each, attests to the success of algal isolation and culture methods in recent years.

It is to be hoped that the expanding use of pure cultures of algae will justify the efforts expended in isolating and maintaining them.

REFERENCES

1. Allen M. B. — The cultivation of *Myxophyceae*. — *Arch. Mikrobiol.*, 17, 34-53, 1952.
2. Bold H. C. — The cultivation of algae. — *Bot. Rev.*, 8, 69-138, 1942.
3. Brunel J., Prescott G. W. and Tiffany L. N. — The culturing of algae. — *Antioch Press, Yellow Springs*, Ohio, 1950.
4. Droop M. R. — A note on the isolation of small marine algae and flagellates for pure culture. — *J. Mar. biol. Ass. U. K.*, 33, 511-514, 1954.
5. Gerloff G. C., Fitzgerald G. P. and Skoog F. — The isolation, purification and culture of blue-green algae. — *Amer. J. Bot.*, 37, 216-218, 1950.
6. Goldzweig-Shelubsky M. — The use of antibiotic substances for obtaining monoalgal bacteria-free cultures. — *Palestine Jour. Bot. (Jerusalem)*, 5, 129-131, 1951.
7. Hervey R. J. — Effect of chromium on the growth of unicellular *Chlorophyceae* and diatoms. — *Bot. Gaz.*, 111, 1-11, 1949.
8. Kufferath H. — La culture des algues. — *Rev. algol.*, 222 p., 1930.
9. Pringsheim E. G. — Pure cultures of algae. — *Cambridge Univ. Press*, 1946.
10. Provasoli L., Pintner I. J. and Packer L. — Use of antibiotics in obtaining monoalgal bacteria-free cultures. — *Palestine J. Bot. Protozool.*, 2, 6, 1951.
11. Reich K. and Kahn J. — A bacteria-free culture of *Prymnesium parvum (Chrysomonadina)*. — *Bull. Res. Council Israel*, 4, 144-149, 1954.
12. Spencer C. P. — On the use of antibiotics for isolating bacteria-free cultures of marine phytoplankton organisms. — *Jour. Mar. biol. Ass. U. K.*, 31, 97-106, 1952.

Fig. 1. — Dilution streaking on agar plates.

A. Diagrams showing pattern of streaks, starting at top and left, and working round plate.
B. Photograph of plates, showing progressive spacing of algal colonies.

Fig. 2. — Test-tube cultures of algae, closed by glass caps.

Source MNHN Fa

A New Method for the Permanent Preservation of Algal Material for Microscopic Study

by I. Mackenzie LAMB
Farlow Herbarium, Harvard University, Cambridge, Mass.

■

One of the drawbacks attending the formation of useful reference collections of marine algae has been the necessity of preserving portions of the material in liquid for later microscopic examination. Bottle or vial collections, preserved in formalin or alcohol, create storage problems on account of their bulk, require a system of cross-indexing with the corresponding herbarium mounts, and quite often, some years later, when the critical moment for examination arises, may be found to have dried up and become worthless for the study of finer microscopic structure. The following method, which utilizes a solid, water-soluble, non-volatile medium (polyethylene glycol) for the same purpose, has been found to obviate all these disadvantages and to give equally satisfactory results.

Polyethylene glycol is commercially marketed under the registered trade name of « Carbowax » by the Union Carbide Chemicals Company, 30 East 42nd Street, New York 17, N.Y. It is obtainable in various grades of different molecular weight, designated, in order of ascending M.W., by numbers ranging from 200 to 6000. The grades of lower M.W. are semi-liquids or soft solids at room temperature; those above 1000 are solids of various degrees of hardness, with a range of consistency varying from that of soft beeswax to that of hard paraffin. The melting points of these higher M.W. grades lie between 40° and 55° C. All of them are readily soluble in water, do not deteriorate with age, remain stable even at temperatures somewhat above their melting point, and are not decomposed by microorganisms.

On account of their resemblance in consistency to paraffin wax and their solubility in water, very effective use has been made of blends of the higher M.W. grades of « Carbowax » (1500, 4000) as a substitute for paraffin in histological work involving imbedding and cutting of serial microtome sections (Blank 1949; Blank

Source MNHN, Paris

and McCarthy, 1950). Their great advantage in this respect is the complete elimination of time-consuming dehydration and rehydration through graded series of alcohols. Preservation of histological structure in « Carbowax » imbedded material was found to be actually superior to that obtainable by the traditional paraffin wax technique.

So far as the present author's knowledge goes, there has been only one previous attempt to use « Carbowax » for the permanent preservation of organic tissues. Sills and Gold (1950) describe a method in which gross pathologic specimens (slices of lungs and other organs) are infiltrated with « Carbowax », allowed to harden, and coated with varnish and finally a thin layer of transparent methacrylate plastic, which gives the specimen a hard surface and allows it to withstand reasonable handling. This method might have some algological applications for the three-dimensional preservation of fleshy forms such as *Leathesia*, but the method suggested in the present article aims at preserving portions of voucher material compactly and permanently for later microscopic examination, rather than the preparation of whole specimens in natural appearance for teaching or exhibition purposes.

Since « Carbowax » tends to be hygroscopic in the lower molecular weights, the grade most suitable for the present method is 4000, which has little or no tendency to absorb moisture from the atmosphere. Its higher melting point (55° C.) is also an advantage for the preservation of material in hotter climates.

The following is an outline of the technique involved :

Fixed algal material is transferred, either from 5 % formalin (after briefly washing with water) or from 70 % alcohol, directly into a small bath of melted « Carbowax » 4000 kept in a thermostatically controlled imbedding oven at 56° C. Depending on the thickness and bulk of the material, it is left in the melted wax at this temperature for a period ranging from half-an-hour (for delicate or filamentous forms) to 2 hours (for thick or densely parenchymatous specimens). Following this, transfer is made to a second bath of fresh « Carbowax » 4000 for a similar period. At the end of this time the algal material is completely dehydrated and impregnated with the « Carbowax », and will have shrunk considerably and taken on a tougher, often almost wiry consistency.

A plain paper card is now prepared for the specimen by typing onto it the relevant data-genus, species, serial number, etc. Ordinary 4 × 6 inch plain index cards are quite suitable for this purpose. The algal material is now taken out of the melted « Carbowax » and immediately placed on the card and spread out as

Source MNHN Pa

evenly as possible. Before the « Carbowax » hardens the card is placed between two sheets of waxed paper (of the type used for wrapping foodstuffs) and flattened between two pieces of cardboard until it solidifies. A cardboard pamphlet cover, interleaved with two sheets of waxed paper, and kept closed by a rubber band, allows this to be done conveniently, and to accelerate the hardening of the mount with maximum homogeneity it is best to place the cover with enclosed specimen in the freezing compartment of a refrigerator for a few minutes.

When the card is cool, the algal material has become fixed to it in a thin layer, immovably imbedded and permanently protected from mechanical damage or deterioration. Each card can now be enclosed in an individual envelope, such as is used for small plant specimens in herbaria. These envelopes take up so little space that they can be stored upright in card index drawers, or if desired, fastened directly to the herbarium sheet with the corresponding dried specimen, there to remain until such time as they may be needed for microscopic examination.

To rehydrate the sample for this purpose, all that is necessary is to place the entire card, or a portion cut from it, into a basin of lukewarm water. Within a few minutes the « Carbowax » dissolves completely, and the algal sample imbibes water and swells up to its natural size and form. It can now be sectioned and mounted for microscopic examination as with fresh material. The preservation of microscopic structure is excellent, even in such delicate forms as *Eclocarpus* and *Ceramium*.

By selecting a suitable portion of the mount, it is often possible to cut good transverse sections of the imbedded material with a razor blade on the card itself without the necessity of dissolving it off in water. The sections, transferred to a drop of water on a slide with a dry brush or needle, immediately expand as the « Carbowax » goes into solution.

Even extremely delicate and mucilaginous filamentous forms, like *Batrachospermum*, can be successfully preserved by this method. In such cases, owing to the difficulty of transferring numerous minute individual filaments from one bath to another, it is best to pour the fixed material out of the vial onto a disc of white filter paper, which is then placed, with the algal material uppermost, on the surface of the melted « Carbowax ». Impregnation takes place from below through the filter paper without disturbance of the material, and the whole disc is finally placed on a card and allowed to cool and set hard in the usual manner.

Source MNHN Paris

So far, this method has been used to preserve material only for routine anatomical examination, but, depending on the methods of initial fixation used, there seems to be no reason why it should not yield equally satisfactory results in the study of cytological detail.

BIBLIOGRAPHY

BLANK H. — A rapid imbedding technic for histologic sections employing a water soluble wax. — *Journ. Invest. Dermatol.*, **12**, 95-99, 1949.

BLANK H. and MCCARTHY P. L. — A general method for preparing histologic sections with a water-soluble wax. — *Journ. Lab. and Clin. Med.*, **36**, 776-781, 1950.

SILLS B. and GOLD G. — A new technique for the preservation of pathologic specimens in a dry state — *Quart. Bull. Sea View Hosp.*, **11**, 159-168, 1950.

BIBLIOGRAPHIE

Les conditions actuelles de l'imprimerie ne permettant plus d'envisager la parution d'une Bibliographie Algologique méthodique comme dans la première série de cette revue, il ne sera publié que des indications bibliographiques concernant les ouvrages importants ou les mémoires d'intérêt général. Les lecteurs de langue française peuvent trouver un complément d'information dans la « Bibliographie » paraissant en annexe au « Bulletin de la Société botanique de France » et dans le « Bulletin analytique » publié par le Centre National de la Recherche Scientifique.

■

Mme P. Gayral. — Algues de la côte Atlantique marocaine. — *Société des Sciences Naturelles et Physiques du Maroc*, Rabat, 1958, 1 vol. rel. toile pet., in-8°, 524 p., 152 pl. photogr. en noir et en couleur. Prix : 3.600 fr.

A part l'Atlas des Algues marines d'Hariot, trop ancien pour être réellement utile et celui de Wuitner, trop plein d'erreurs grossières pour que son usage puisse être recommandé, il n'existait pas en langue française d'ouvrage élémentaire commode que l'on puisse conseiller aux étudiants et amateurs désireux de s'initier à l'étude des Algues marines.

Le livre que vient de publier Mme Gayral, professeur de Botanique à la Faculté des Sciences de Rabat, comble cette lacune car il constitue un excellent guide, pratique et simple en même temps que de haute tenue scientifique et bien au courant des travaux modernes. Bien que consacré aux Algues du Maroc, il pourra être largement utilisé sur nos côtes où existent également la plupart des espèces décrites.

Après une introduction sur le milieu marin, la répartition des Algues et des renseignements pratiques sur leur récolte et leur conservation, l'auteur résume dans des tableaux originaux les caractères principaux des classes, ordres, familles et genres d'algues marines marocaines.

Un autre chapitre bien documenté est ensuite consacré à l'utilisation des Algues marines.

Une clé de détermination des espèces les plus communes de la côte atlantique du Maroc précède leur description accompagnée de dessins et de photos originales.

Le texte consacré à chaque espèce comprend, outre une description morphologique et anatomique, des paragraphes consacrés à sa biologie, son écologie, sa répartition géographique et éventuellement ses usages.

L'ouvrage se termine par un glossaire des termes scientifiques utilisés et un index alphabétique des espèces citées.

On doit féliciter grandement Mme Gayral d'avoir entrepris et mené à bien la rédaction de cet ouvrage de haute vulgarisation qui intéressera non seulement le spécialiste pour les observations originales qu'il renferme, mais aussi et surtout les débutants, étudiants ou amateurs à qui on peut le recommander sans hésitation. Nul doute qu'il ne détermine, tant au Maroc qu'en France un renouveau d'intérêt pour les Algues marines et ne suscite des vocations d'algologue parmi ses lecteurs.

J. Feldmann.

Source MNHN Paris

Ernst J. et Feldmann J. — Une nouvelle Delesseriacée des Côtes de Bretagne : « *Drachiella spectabilis* » nov. gen. nov. sp. — *Rev. gén. Bot.*, **64**, pp. 466-478, 7 fig., 1957.

Les auteurs décrivent une algue rouge, de la sous-famille des Nitophyltoidées, du groupe des *Myriogramme*.

Cette petite algue de 5-6 cm. a été trouvée en place, grâce au scaphandre autonome, entre 3 m. et 25 m. de fond, sous les peuplements de *Laminaria ochroleuca* et *L. hyperborea*. Elle est largement répandue dans la région de Roscoff, Morlaix et Lannion.

Ce nouveau genre est caractérisé par la localisation des tétrasporocystes sur de petites folioles spécialisées réparties à la surface de la fronde et constituant des tétrasporophylles. Les plastes rubannés ont une structure très voisine de celle qu'on observe chez *Myriogramme*.

Drachiella est une algue à stipe pérennant à fructification hivernale, et à lame foliacée annuelle, tristromatique.

Les individus sexués n'ont pas été observés; le développement des tétraspores est très lent et en 4 ou 5 semaines, les plantules n'ont que 4 à 6 cellules.

Le cycle annuel de *Drachiella* rappelle celui de *Laminaria hyperborea* en compagnie duquel il vit. — P. By.

Feldmann J. et G. — Recherches sur quelques Floridées parasites. — *Rev. gén. Bot.*, **65**, pp. 49-127, 30 fig., 2 pl., 1958.

Cet intéressant mémoire s'attache à deux floridées parasites : une Rhodomelacée : *Janczewskia verrucaeformis* parasite de *Laurencia obtusa* et une Delesseriacée : *Asterocolax Erythroglossi* parasite de *Erythroglossum sandrianum*.

Ces parasites ont un appareil végétatif très réduit, et des organes reproducteurs rappelant étrangement ceux de l'algue-hôte.

Les auteurs étudient avec précision la morphologie et la cytologie de *Laurencia obtusa* et de son parasite. Chez le parasite et chez l'hôte ils retrouvent dans chaque cellule externe un organite spécial, le « corps en cerise ». Ce corps renferme un produit de sécrétion de nature complexe.

Le *Janczewskia* ne possède pas de pigments assimilateurs et les plastes incolores, filamenteux, ont l'aspect de gros chondriocontes.

Les organes reproducteurs de ce parasite sont décrits en détails : ils ont la même structure et le même mode de développement que ceux du *Laurencia* parasité.

Les auteurs suivent le développement des spores de *Janczewskia* en Laboratoire sur lame de verre et sur l'hôte. Sur lame de verre, les plantules, dépourvus de pigments assimilateurs, meurent rapidement. Sur *Laurencia*, au contraire, les jeunes plantules à 2 ou 3 cellules, se fixent par un rhizoïde qui pénètre ensuite dans les tissus de l'hôte et développe un nouveau parasite. Les cellules extérieures disparaissent alors.

L'étude de la Delesseriacée parasite *Asterocolax* montre aussi un parasite à plastes peu pigmentés, à appareil végétatif réduit, et à affinités systématiques étroites avec la plante parasitée.

Les auteurs tirent de cette belle étude des conclusions fort intéressantes : ils proposent d'appeler « adelphoparasites » les parasites pré-

Source : MNHN, Paris

sentant des affinités systématiques très étroites avec leur hôte. Ce type de parasite n'exerce pas, semble-t-il, d'activité nocive sur les tissus parasités : ils mêlent souvent son cytoplasme avec celui de l'hôte et réussit ainsi une « symbiose » intracellulaire. Souvent, en effet, on observe des unions par ponctuations secondaires, avec synapses, entre les cellules du parasite et celles de l'hôte.

Il semble donc que ces parasites soient des simples mutants hétérotrophes d'espèces autotrophes très voisines de celles qui leur servent d'hôtes.

Pour terminer les auteurs rapprochent le développement des spores de *Janczewskia* de celui de certains Ascomycètes parasites. Il y aurait là encore un argument en faveur de l'origine floridéenne des Champignons. — P. By.

Balech E. — Plancton de la Campaña Antartica Argentina 1954-1955. — *Physis*, 21-60, pp. 75-108, 7 pl., 1958.

L'auteur présente une belle étude des Tintinnoidiens et des Dinophycées du plancton antarctique de la région argentine. Il montre que, dans les travaux anciens sur la microflore de l'antarctique, le genre *Peridinium* est pauvrement représenté. Son étude permet de combler cette lacune : il signale 17 Dinoflagellés dont une sp. nov. de *Dinophysis* et 11 sp. nov. de *Peridinium*. Toutes les espèces rencontrées sont décrites avec soin, et d'excellentes figures montrent les détails précis de la tabulation.

Une liste des stations avec le relevé floristique des Diatomées permet d'avoir une vue d'ensemble du milieu planctonique. — P. By.

Balech E. — Dinoflagellés et Tintinnides de la Terre Adélie (Secteur français antarctique) récoltes du Dr Sapin Jaloustre (1950), du Dr Cendron (1951) et de M. Prévot (1952) (Missions polaires françaises de P. E. Victor). — *Vie et Milieu*, 8, 4, pp. 382-408, 184 fig., 1957-58, 1958.

L'auteur donne une importante étude systématique des Dinoflagellés du plancton antarctique, cette étude complète celle dont nous donnons l'analyse ci-dessus. La région de la Terre Adélie fournit 18 espèces de Dinoflagellés, dont 5 espèces nouvelles appartenant au genre *Peridinium*. Dans ce matériel, l'auteur retrouve 5 espèces qu'il avait décrites comme nouveautés dans son travail sur le secteur antarctique argentin. Ainsi sur les 18 Dinoflagellés, 10 espèces sont communes à la Terre Adélie et la région antarctique argentine.

A la fin de son article l'auteur donne la liste floristique par stations, en indiquant les Diatomées caractéristiques qui accompagnent les Dinoflagellés. — P. By.

Boddeke R. — The genus Callithamnion in the Netherlands, taxonomic and oecological Study. — *Act. Bot. Neerland.* 7, pp. 589-604, 15 fig., 1958.

Source MNHN, Paris

L'auteur étudie les *Callithamnion* de Hollande, il prend ce genre au sens large et ne sèpare pas les *Aglaeothamnion* des *Callithamnion*. La distinction des 2 genres, préconisée par Mme FELDMANN, est fondée sur le nombre des noyaux et la forme des gonimolobes. Le 1er caractère est impossible à utiliser pour le matériet d'herbier, le second semble de valeur douteuse, d'après l'auteur.

5 espèces sont rencontrées en Hollande, l'auteur donne pour chacune de ces espèces, une étude complète : synonymie, structure, cycle annuel, milieu écologique, distribution géographique; une carte montre les localités des Pays-Bas.

Une belle sèrie de microphotographies illustre cette intèressante mise au point. — P. BY.

SUBRAHMANYAN R. — Observations on the anatomy cytologie, development of the reproduction structures, fertilization and embryology of *Pelvetia canaliculata*. I, II, III. — *Journ. Indian Bot. Soc.*, **35**, **36**, pp. 374-390, 12-34, 373-395, fig. et pl., 1956-1957.

Dans trois articles illustrés de nombreuses figures et de planches de microphotographies, l'auteur étudie successivement l'anatomie du thalle, la mitose somatique, le développement du conceptacle, les structures au moment de la reproduction, la méiose dans la gamatogenèse, la libération de gamètes, leur fusion et la germination du zygote. Nous avons donc l'étude précise de *Pelvetia* pendant tout son cycle vital. Dans la 1re partie, l'auteur observe en détail le mode de croissance du thalle à partir d'une cellule apicale, en forme de pyramide tronquée qui se segmente suivant ses 5 faces en donnant 3 tissus, méristoderme, cortex et moelle. La transformation en tissu différencié, la production des hyphes, la structure du stipe, constituent l'objet des principaux paragraphes. La division somatique montre plus de 40 chromosomes (2n).

La 2e note est consacrée au développement du conceptacle, dont la première division est longitudinale, tandis que chez les autres Fucales cette division est transversale.

La réduction chromatique a lieu pendant la gamétogenèse et « n » est voisin de 22. Chaque oogone donne 2 gonidies et chaque anthéridie, 64 spermaties.

La fusion des gamètes est observée ainsi que la segmentation du zygote et la germination. La production de 4 rhizoïdes par embryon montre une affinité avec les Sargasses.

L'origine de la cellule apicale est examinée soigneusement, elle provient du méristoderme. Dans les *Fucus*, la cellule apicale est trichothallique, dans l'embryon de *Pelvetia* on n'observe jamais de touffe de poils, contrairement à ce qui a été écrit.

Une bibliographie très complète, termine cet important travail.

P. BY.

INAGAKI K. I. — A systematic Sludy of the Order Chordariales from Japan and its vicinity. — *Scient. pap. Inst. Algol. res. Hokkaido Univ.*, **4**, **2**, 197 p., 11 pl., 83 fig., 1958.

Source MNHN Paris

Cet important ouvrage se présente comme une étude monographique des Chordariales du Japon. Après un court chapitre sur la morphologie de ces algues, l'auteur passe en revue les genres et les espèces qu'il a rencontrés au Japon. Pour chaque algue, nous trouvons une description du genre, puis la description des espèces avec les références bibliographiques et la synonymie.

Les localités japonaises, les remarques sur l'écologie, et très souvent de nombreuses figures montrant la structure des algues complètent ce travail.

De nombreuses espèces, variétés ou formes nouvelles sont décrites : elles appartiennent aux genres : *Leathesia, Myriogloia, Papenfusiella, Haplogloia, Sauvageaugloia, Sphaerotrichia, Heterochordaria* et *Acrothrix*. Un nouveau genre : *Pseudochorda* Yamada, Tokida et Inagaki est découvert. L'espèce type de ce nov. genre, qui a l'aspect de *Chorda filum* et la structure interne de *Chordaria*, avait d'abord été placée par Tokida dans les *Chordaria*. Mais l'absence de poils hyalins, la forme et la place des sporanges uniloculaires, l'origine des rhizoïdes, justifient la création de ce nov. genre.

En résumé un important travail qui complète pour le Japon, les ouvrages classiques de Kylin sur les Chordariales. — P. By.

Hendey I. — Marine Diatoms from some West African Ports. — *Journal of the Royal Microscopical Society*, Vol. LXXVII, parts 1 et 2, pp. 27-85, Octobre 1958.

Le matériel étudié par l'auteur provenait du lavage des dépôts prélevés sur une série de panneaux en bakélite de 6 in. × 6 in., immergés en quatre points de la côte Ouest africaine. Ces panneaux ayant été utilisés en vue d'évaluer l'intensité des dépôts produits par les organismes marins, susceptibles de détériorer la coque des navires et des installations immergées. Ces panneaux furent plongés à des profondeurs de 1 à 10 m., en des positions situées entre les lat. 20° N et 20° S, dans les baies de Fura à Freetown et de Tarquah à Lagos, ainsi qu'à Port Harcourt situé à une soixantaine de kilomètres dans l'estuaire de la rivière Bonny, enfin à Takoradi où les conditions de milieu étaient nettement différentes de celles des stations précédentes.

L'analyse du matériel provenant de ces dispositifs expérimentaux s'est révélée fort riche en Diatomées, donnant un total de 194 espèces dont 13 nouveautés pour la Science. L'inventaire systématique de ce travail constitue une très importante contribution à la biologie de la côte Ouest du continent africain, encore peu connue jusqu'à ce jour. La flore diatomique étudiée par l'auteur présente un faciès mangrovien nettement accusé, elle révèle également de grandes affinités biogéographiques avec celle relevée par Hagelstein (1939) pour les Caraïbes. Ainsi sur les 194 espèces de la côte Ouest africaine, 100 sont communes à ce domaine des petites Antilles.

La partie systématique du travail est accompagnée d'intéressantes données sur la répartition géographique des espèces observées, ainsi que de remarquables et judicieuses discriminations sur certaines formes critiques. Les nouveautés en espèces sont les suivantes : *Coscinodiscus domofactus, C. nodulolineatus, Plagiogramma exiguum, Achnanthes kuwaitensis, A. marginalis; Navicula inaurata, N. pseudoapproximata,*

Source : MNHN, Paris

N. pelloides; Nitzschia corpulenta; Surirella senta. Enfin trois genres nouveaux : *Cymatotheca, Cymatodiscus, Trybliopiychus,* fondés sur le remaniement d'anciens genres, sont créés par l'auteur. Le texte de cette dernière et importante partie de ce travail est suivi de planches microphotographiques de tout premier ordre. — E. MANGUIN.

Von STOCH H. A. — Der Geiselapparat einer Coccolithophoride. — *Die Naturwiss.*, 45, 6, pp. 140-141, 2 fig., 1958.

Nous n'avions pas de précision sur le type structural des flagelles des Coccolithophoracées, l'auteur comble cette lacune importante par l'étude de *Syracosphaera.* Les 2 flagelles sont nus, dépourvus de mastigonèmes, et de plus le pôle flagellaire présente un « haptonème » très court analogue à celui qui est connu dans le genre *Prymnesium.* On peut donc, d'après ces caractères placer les Coccolithophorides au voisinage des Prymnésiales. — P. BY.

Von STOCH H. A. — Einige Bemerkungen zur Phylogenie des Diatomeen. — *Die Naturwiss.*, 45, 6, p. 141, 1 fig., 1958.

Cette courte note est fort importante, l'auteur, dont les beaux travaux sur la sexualité des Diatomées centriques, sont désormais classiques, y précise la structure fine du flagelle chez les gamètes mâles des Diatomées centriques.

Il colore suivant la technique de ZETTNOW les spermaties de *Chaetoceros* et d'*Actinoptychus* et montre que le flagelle unique est pleuronématé comme chez les Chrysophycées du genre *Chromulina.* Le rattachement systématique des Diatomées, aux Chrysophycées et aux Hétérocontes en un grand phylum des Chrysophytes est donc pleinement justifié. — P. BY.

LEFÈVRE M. — De l'influence des matières organiques sur la nature et l'abondance du plancton. — *Ann. Stat. Centr. Hydrob. appl.*, 7, pp. 253-267, 1958.

L'auteur étudie la flore algale d'un étang du Cher, long et étroit, dont la partie antérieure reçoit les eaux usées d'une ferme.

Le phytoplancton de la tête de l'étang, riche en matières organiques, est dominé par les Flagellés et les Chlorococcales.

Dans la partie moyenne, où commence l'autoépuration, les Flagellés diminuent et sont remplacés par des Cyanophycées, tandis que les Chlorococcales restent abondantes. Enfin au déversoir où l'autoépuration est complète, nous voyons s'installer les Desmidiées avec une baisse spectaculaire des Chlorococcales et Flagellés.

Le même phénomène s'observe dans l'Etang du Rondeau à Rambouillet. Cet étang, à rendement piscicole exceptionnel (600 kg. de poissons à l'hectare), est alimenté par des sources profondes très riches en matières organiques. La florule est dominée par les Eugléniens et les Chlorococcales.

L'adjonction de purin à des étangs piscicoles pauvres ou déficients, fait apparaître une population à Euglèniens et Chlorococcales très favorable au zooplancton et aux poissons.

Source MNHN Fe

Cet intéressant travail met en lumière une série de facteurs écologiques importants et souvent négligés, il éclaire ainsi les problèmes complexes de l'eutrophisation accidentelle, ou volontaire, des eaux douces. — P. By.

Scott A. M. et Grönblad R. — New and interesting Desmids from the Southeastern United States. — *Act. Soc. Scient. Fennicae*, n. s. B. 11, 8, 62 p., 37 pl., 1957.

Les régions chaudes des U.S.A., Alabama, Géorgie, Tennessee, Louisiane, Mississipi, Floride, fournissent aux auteurs, un nombre considérable de Desmidiées dont les nouveautés et les espèces intéressantes sont étudiées avec beaucoup de soin et représentées dans 37 planches grand format, d'une exécution parfaite groupant plus de 500 figures. Les taxa nouveaux appartiennent aux genres : *Gonatozygon, Cylindrocystis, Penium, Pleurotaenium, Docidium, Triploceras, Euastrum, Cosmarium, Arthrodesmus, Xanthidium, Staurastrum, Cosmocladium, Groenbladia, Spondylosium, Sphaerozosma, Onychonema, Desmidium, Bambusina.* En tout, sont décrites et figurées plus de 200 formes, variétés et espèces nouvelles. — P. By.

Grönblad R., Prowse G. A. et Scott A. M. — Sudanese Desmids. — *Act. Bot. Fennica*, 58, 82 pp., 29 pl., 1958.

Voici une belle contribution à la connaissance des algues d'eau douce africaine. Il s'agit de matériel récolté dans le Soudan égyptien, dans la région du Bahr el Gazal. Les Desmidiées sont très abondantes et nous relevons dans ce mémoire 205 unités systématiques dont 62 nouveautés appartenant aux genres : *Gonatozygon, Pleurotaenium, Triploceras, Euastrum, Micrasterias, Cosmarium, Xanthidium, Arthrodesmus, Staurastrum, Onychonema, Desmidium, Phymatodocis.*

Parmi ces nouveautés signalons la présence de deux nov. *Micrasterias* extraordinaires, présenlant, à l'état normal, des hémisomates de formes différentes. Il y a là un phénomène intéressant déjà observé par Grönblad dans le genre *Anscottia.* Les auteurs ne donnent pas d'indications biogéographiques sur la répartition des Desmidiées étudiées, mais la lecture de leur mémoire montre un nombre d'espèces déjà signalées en Afrique australe ou à Madagascar à côté d'autres Desmidiées pantropicales connues de l'Amérique ou d'Insulinde.

Ce travail est paru quelques mois après celui de Bourrelly, analysé ci-dessous, de ce fait quelques espèces nouvelles sont décrites dans ces deux études africaines, sous des noms différents. Ainsi l'*Arthrodesmus stelliferum* Grönbl. et Scott doit être considéré comme une var. de l'*A. Heimii* Bourr.; le *Cosmarium Stephensii* f. *minor* Grönbl. et Scott est appelé var. *minor* par Bourrelly, le *C. taxichondrum* v. *Sudanense* Grönbl. et Scott est nommé chez nous, *pseudotaxichondrum* v. *pentachondrum*, tandis que notre *Euastrum elegans* v. *compactum* fo. Bourr. est élevé avec raison par Grönblad et Scott au rang de variété sous le nom : var. *spiniferum*. De même notre fo. de *Xanthidium calcarato-aculeatum* est la var. *sudanense* Grönblad et Scott.

Source : MNHN, Paris

Nous pensons que le *Micrasterias tropica* v. *ambadiensis* Grönblad et Scott doit s'appeler : v. *senegalensis* Nordst; sans doute le *Staurastrum Rzoskae* Grönblad et Scott n'est qu'une forme de *St. spiculiferum* v. *africanum* Bourr.

Ces quelques précisions montrent bien que la florule desmidiale du Niger Français et celle du Soudan Egyptien ont de nombreux points communs. Les espèces communes aux deux régions sont nombreuses, et les pourcentages des divers genres de Desmidiées sont remarquablement voisins. Nous avions pour le Niger : 162 Desmidiées dont 40 nouveautés, soit 24,6 %; pour le Soudan le chiffre est 30,2.

Dans l'ensemble desmidial, les *Micrasterias* représentent 6,7 au Niger, 6,8 au Soudan, les *Pleurotaenium*, *Cosmarium* et *Staurastrum*, respectivement : 5,3; 35,5; 15,1 au Soudan et 5,5; 30,8 et 22,8 au Niger. On voit donc que malgré la distance de plusieurs milliers de kilomètres qui séparent les deux aires étudiées, et malgré la situation nettement plus nordique (d'environ 500 km.) de la région du Niger, les ressemblances sont très grandes entre ces florules algales des eaux acides chaudes.

P. By.

Bourrelly P. — Algues d'eau douce du Soudan Français, région du Macina (A.O.F.). — *Bull. I.F.A.N.* 19, ser. A, 4, pp. 1047-1102, 21 pl., 1956.

L'étude de quelques récoltes de lacs situés du Sud-Ouest de Tombouctou, dans la zone d'inondation du Niger, nous a révélé une florule algale de 213 sp., var. et fo. où dominent les Desmidiées avec 162 unités systématiques. 44 nouveautés sont décrites, elles appartiennent aux genres : *Trachelomonas*, *Oedogonium*, *Bulbochaete*, *Spirogyra*, *Euastrum*, *Actinotaenium*, *Cosmarium*, *Xanthidium*, *Arthrodesmus*, *Staurastrum*. Parmi ces algues l'élément pantropical des régions chaudes, est abondant : 32 %; de plus beaucoup d'espèces sont des endémiques africaines.

Cette étude nous a permis d'élargir vers l'Ouest de l'Afrique, l'aire de répartition des Desmidiées de région chaude, et il semble que c'est là, dans la région du Macina, que certaines espèces rencontrent leur limite septentrionale africaine. — P. By.

Bourrelly P. — Une nouvelle espèce de Cyanophycée d'eau douce du genre *Desmosiphon*. — *Bull. C.E.R.S., Biarritz*, 4, pp. 589-594, 2 pl., 1957.

Dans un étang acide de la région de Biarritz l'auteur rencontre une nov. sp. de Cyanophycée du genre *Desmosiphon*. Cette nov. espèce est intermédiaire entre les genres *Nematoplaca* et *Desmosiphon*. L'auteur présente une révision du groupe *Nematoplaca* et *Desmosiphon* et propose de supprimer le genre monospécifique *Nematoplaca* en le fusionnant avec *Desmosiphon*.

De ce fait *Desmosiphon* renfermera 3 espèces : *D. maculans* Borzi, *D. Vivieri* nov. sp. et *D. incrustans* (Geitler) nov. comb. — P. By.

Source MNHN Paris

BOURRELLY P. — Un genre de Rhodophycée d'eau douce nouveau pour la France, *Kyliniella*, récolté dans les environs de Biarritz. *Bull. C.E.R.S. Biarritz*, 4, pp. 595-600, 2 pl., 1957.

Dans un petit étang acide, l'auteur signale une Rhodophycée fort rare : *Kyliniella latvica* Skuja, espèce connue de Lettonie, Suède, Autriche, U.S.A.. Il étudie le thalle et les filaments et observe la présence de longs poils muqueux. Ces poils, fort difficiles à observer, sont retrouvés dans les exemplaires de Lettonie, aimablement communiqués par le Dr SKUJA. — P. BY.

KOMAREK J. — Die Taxonomomische Revision der planktischen Blaualgen der Tschechoslowakei. — *Algologische Studien, Prague*, pp. 10-206, 19 pl., 12 pl. phot., 1958.

L'auteur nous donne une révision complète des Cyanophycées planctoniques de Tchécoslovaquie. Il passe en revue 18 genres et étudie particulièrement en détail une trentaine d'espèces.

Pour chaque genre, chaque espèce, synonymie très complète, diagnose, iconographie, figures et microphotographies originales, courbes biométriques, permettent d'arriver à une grande précision systématique. L'auteur, avec sagesse, revient aux coupures génériques classiques d'*Aphanothece, Chroococcus, Merismopedia, Coelosphaerium, Gomphosphaeria*, etc...

Le nom de *Microcystis* est proposé pour la liste des *nomina conservanda*, et en attendant une décision, l'auteur emploi *Diplocystis*, terme plus ancien.

Dans les *Microcystis* une tentative de mettre un peu d'ordre, dans ce genre, oblige à créer 2 nov. nominations. Les *Coelosphaerium pusillum, roseum, naegelianum* sont réunis, du fait de la présence de tractus gélatineux rayonnants, aux *Gomphosphaeria*.

L'étude biométrique des dimensions des trichomes et des spores permet une systématique allégée et rationnelle des *Aphanizomenon* et des *Anabaena*. Dans ce genre, les espèces *Viguieri, planctonica, limnetica, Lemmermannii*, passent au rang de variétés ou de formes. L'auteur montre dans une série de figures, les déformations et artefacts causés par la fixation du matériel. Ce problème déjà étudié par JAAG, avait besoin d'être rappelé. Comme on le voit par ces quelques lignes, ce travail, dont les conclusions systématiques, semblent fort raisonnables, est d'un grand intérêt et rendra service à tous ceux qui étudient le phytoplancton. — P. BY.

DREW K. M. et FRIEDMANN I. — Occurence of mobile Gametes in *Prasiola stipitata* Suhr. — *Nature*, **180**, pp. 557-558, 1957.

Dès 1932, YABE (*Sc. Rep. Tokyo, Bunrika Daigaku*, 1, 39) avait observé un processus sexuel, anisogamique, chez *Prasiola japonica*. FUJIZAWA (*Bot. Mag. Tokyo*, 62, 1949 et *J. fac. fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.*, 1, 1955) confirme ces résultats pour la même espèce, mais pour lui les éléments femelles sont dépourvus de motilité.

DREW et FRIEDMANN, chez une espèce européenne, observent une anisogamie avec gamètes mobiles. Les thalles gamétophytiques, en hiver, se

Source MNHN Paris

reconnaissent à leur aspect en mosaïque : les parties femelles étant plus foncées que les parties mâles. Le thalle, ordinairement monostromatique, présente quatre couches dans la partie femelle et huit dans la partie mâle. Les gamètes sont à deux flagelles, isocontes, à mastigonème terminal. A la fusion des gamètes, le mâle perd ses deux fouets et la femelle un seul, puis le planozygote perd ce fouet, s'immoblise et s'arrondit. — P. By.

Skuja H. — Mycochrysis nov. gen., Vertreterin eines neuen Typus der Koloniebildung bei den gefärbten Chrysomonaden. — *Sv. Bot. Tidskr.*, 52, 1, p. 23-36, 14 fig., 1958.

Cette nov. Chrysophycée forme des colonies fixées de grande taille (2 à 3 mm) vivants dans les eaux d'un fossé à végétation thiophile (*Chromatium, Thiothrix, Beggiatoa*).

Les colonies ont un pédoncule composé, gélatineux, élargi ayant l'aspect d'un champignon, du type *Cantharellus*, ou mieux *Polyporus umbellatus*. Dans les petits chapeaux ainsi formés, sont piquées des monades à structure d'*Ochromonas*, ayant 2 fouets inégaux, un ou 2 plastes jaune-brun, un stigma, des vacuoles contractiles, du chrysose, des corps mucifères. Les monades se terminent par un style de fixation. La multiplication peut se faire par division ou par libération des cellules qui deviennent alors nageuses; les kystes siliceux ont été obervés. Ce type de colonie très particulier rappelle celui d'un *Monas* incolore, *Monas Lindahlii* Skuja, mais chez *Mycochrysis*, la structure coloniale est plus complexe que chez le *Monas*.

Ce nouveau genre, particulièrement curieux, montre la puissance adaptative, tant structurale qu'écologique, des Chrysophycées. — P. By.

Ettl H. — Zur kenntnis der Klasse Volvophyceae. — *Algologische Studien*, Prague, p. 206-289, 40 fig., 1958.

L'auteur, après avoir comparé les diverses classifications des Volvocales (ordre élevé au rang de classe, sous le nom de Volvophyceae) proposées par Printz, West et Fritsch, Pascher, Korchikov, Skuja, Smith, donnent une critique serrée de ces systèmes et propose à son tour, une nouvelle classification, classification qui lui semble suivre de plus près la phylogénie de ce groupe de flagellés verts. Il distingue 5 ordres :

1°) Pyramimonadales, avec la famille unique des *Pyramimonadaceae*.

2°) Raciborskiellales, famille des *Dangeardinellaceae* et *Raciborskiellaceae*.

3°) Chlamydomonadales avec *Chlorogoniaceae, Chlorothoracaceae, Haematococcaceae, Chlamydomonadaceae* et *Phacolaceae*.

4°) Volvocales avec *Stephanosphaeraceae, Coronaceae, Spondylomoraceae, Volvocaceae*.

5°) Pedinomonadales avec *Pedinomonadaceae* et *Monomastigaceae*.

Source MNHN Paris

Les 2 premiers ordres correspondent aux Polyblèpharicacées classiques, et groupent les formes nues, sans membrane; les autres ordres ne présentent que peu de changements avec les classifications des auteurs anciens. Dans la division en famille, l'auteur accorde une place importante au nombre de vésicules contractiles. Ainsi dans le genre *Chlorogonium* seront placées toutes les espèces à plusieurs vacuoles contractiles. Comme le remarque la « rédaction scientifique » de l'ouvrage, ce système ne laisse aucune place précise pour les formes marines dépourvues de vacuoles pulsatiles. Ce caractère permet à l'auteur de créer le genre *Pseudocarteria* pour les *Carteria* à nombreuses vésicules contractiles, et une famille spéciale pour le nov. gen. *Chlorothoracus* groupant les *Dysmorphococcus* à plusieurs vacuoles.

L'exposition de ce système achevé, l'auteur présente un grand nombre d'espèces nouvelles appartenant aux genres *Tetrachloris, Chlamydomonas, Brachiomonas, Carteria, Pyrobotrys,* et un certain nombre de nov. comb. Il précise aussi la description d'espèces rares ou mal connues. Nous avons là un travail intéressant, fort bien documenté, accompagné d'observations très précises. Nous regretterons seulement une bibliographie un peu incomplète : les travaux de Droop sur *Haematococcus* parus ici-même, les notes de Chadefaud sur la Phylogénie des Chlorophycées, les mises au point de Schussnig (Forschr. Bot.) ne sont malheureusement pas cités. Dans ces travaux sont précisées des hypothèses importantes qui permettent, pensons-nous de concevoir une systématique nouvelle des Volvocales, où interviendraient les caractères suivants : présence de membrane, papille ou cratère flagellaire, insertion apicale ou latérale des fouets, nombre des vacuoles contractiles, tractus cytoplasmiques entre cellule et membrane, etc... — P. By.

Le Gérant : R. Lami. — Imp. Monnoyer, Le Mans.

Source MNHN Paris